

THESES

présentées

à la Faculté de Pharmacie de Nancy

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Doctorat d'Etat)

par

Thérèse GIRARD

Pharmacien

Assistante-Déléguée Chef de Travaux Pratiques

Diplômée d'Etudes Supérieures de Microbiologie

Diplômée d'Etudes Supérieures de Chimie-Biologique

1^{re} Thèse : Contribution à l'étude
de la Rhizosphère de *Digitalis Purpurea* L.
Incidences sur sa Biologie

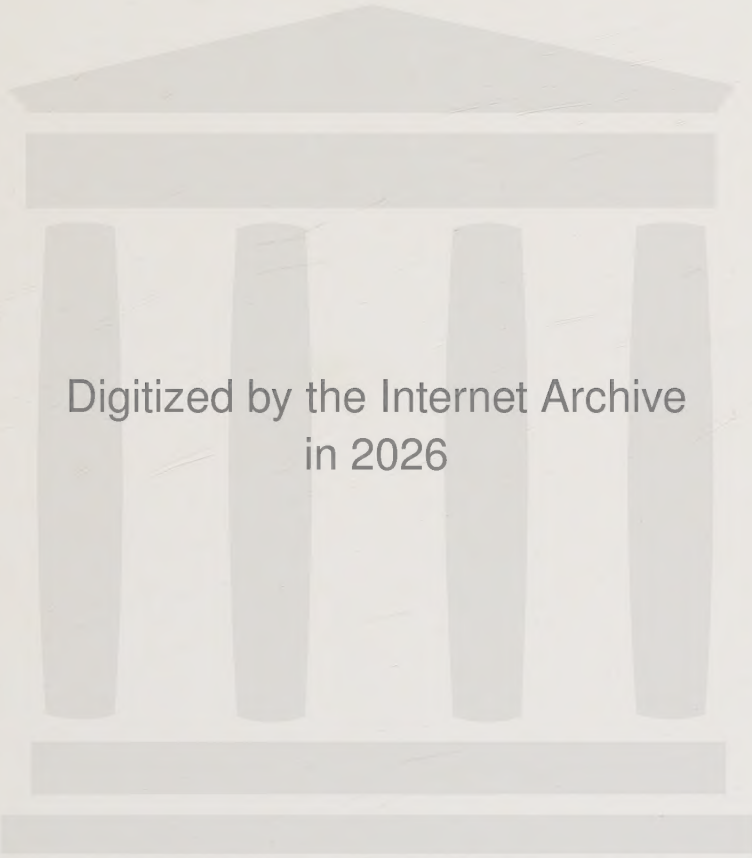
2^e Thèse : Propositions données par la Faculté

Soutenues le 22 Juin 1963 devant la Commission d'Examen

Président : M. FRANQUET, Professeur

Juges : M. STEIMETZ, Professeur
M. BENE, Professeur

Adjoint au Jury : M. POCHON,
Chef de Service à l'Institut Pasteur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THESES

présentées

à la Faculté de Pharmacie de Nancy

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Doctorat d'Etat)

par

Thérèse GIRARD

Pharmacien

Assistante-Déléguée Chef de Travaux Pratiques

Diplômée d'Etudes Supérieures de Microbiologie

Diplômée d'Etudes Supérieures de Chimie-Biologique

1^{re} Thèse : Contribution à l'étude
de la Rhizosphère de *Digitalis Purpurea L.*
Incidences sur sa Biologie

2^e Thèse : Propositions données par la Faculté

Soutenues le 22 Juin 1963 devant la Commission d'Examen

Président : M. FRANQUET, Professeur

Juges : M. STEIMETZ, Professeur

M. BENE, Professeur

Adjoint au Jury : M. POCHON,

Chef de Service à l'Institut Pasteur

UNIVERSITE DE NANCY — FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

Doyen : Professeur A. BERNANOSE

Assesseur : Professeur A. MEUNIER

Secrétaire Principal : B. SEUROT

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs :

M. MEUNIER A.	Pharmacie galénique.
M ^{lle} FRANÇOIS M.-Th.	Matière Médicale.
MM. KAYSER F.	Chimie.
FRANQUET R.	Botanique.
MARCHAL J.-G.	Microbiologie.
STEIMETZ E.	Sciences Naturelles.
BLOCH J.-M.	Toxicologie.
SOLEIL J.	Pharmacie Chimique.
BERNANOSE A.	Physique.
M ^{lle} BESSON S.	Pharmacodynamie.

Professeur sans Chaire :

M. BENÉ	C. E. S. Microbiologie.
---------	-------------------------

Maîtres de Conférences Agrégés :

MM. MIRJOLET M.	Sciences Physicochimiques.
PELT J.-M.	Matière Médicale.
PIERFITTE M.	Chimie Biologique.
ROBBA M.	Chimie Organique.

Chargés de cours complémentaires :

M. MEUNIER A.	Hydrologie.
M ^{lle} FRANÇOIS M.-T.	Hygiène.
MM. KAYSER F.	Biochimie Technique.
FRANQUET R.	Cryptogamie.
MARCHAL J.-G.	Parasitologie.
STEIMETZ E.	Mycologie - Minéralogie.
BLOCH J.-M.	Chimie Minérale.
SOLEIL J.	Chimie Organique.
BERNANOSE A.	— Optique et Acoustique.
	— Mathématiques préparatoires aux Sciences physiques.
M ^{lle} BESSON S.	— Application thérapeutique de la Pharmacodynamie.

MM. BENÉ R.	Bactériologie.
LAGARDE (Maître de Conférences à la Faculté de Droit).	Déontologie.
MIRJOLET M.	Chimie Analytique.
PIERFITE M.	C. E. S. Chimie Biologique.
ANZIANI P.	Caractères Analytiques des Sels.
M ^{me} LASSEUR A.	Techniques Spéciales d'Analyses.
M ^{lle} GIRARD Th.	Techniques du Diagnostic bactériolo- gique au Laboratoire.
M ^{me} BALDO S.	Techniques des Examens parasitolo- giques et de l'analyse coprologique.

Chefs de travaux :

M. ANZIANI P.	Chimie.
M ^{me} LASSEUR A.	Microbiologie - Parasitologie.
<i>Délégués :</i>	
M ^{lle} GIRARD Th.	C. E. S. Microbiologie.
MM. SIEST G.	Chimie Biologique.
HAYON J.-Cl.	Micrographie.
AIMOND P.	Chimie.
LOPPINET V.	Physique.
CHASTE J.	Sciences Pharmaceutiques.

Doyens Honoraires : M. RICHARD, Recteur de l'Académie de Montpellier ;
M. KAYSER, Professeur à la Faculté de Pharmacie de
Nancy.

Professeur Honoraire : H. CORDEBARD

S O M M A I R E

PRELIMINAIRES

OBJET ET LIMITES DU TRAVAIL	4
<i>DIGITALIS PURPUREA</i> L. - CARACTERES GENERAUX	7
Description	7
Habitat naturel	8
Récolte et essais de culture	10
TECHNIQUES UTILISEES POUR L'ANALYSE DES SOLS ET DE LA RHIZOSPHERE	12
A. — Etude d'un sol	13
I. — Prélèvement	13
II. — Préparation de l'échantillon	14
III. — Détermination des caractères microbiologiques	14
IV. — Détermination des caractères physico-chimiques	21
B. — Etude de la rhizosphère d'une plante	22
I. — Prélèvements	22
II. — Préparation des divers échantillons	23
III. — Détermination du taux d'humidité	24
IV. — Détermination des caractères microbiologiques	24
V. — Détermination des caractères physico-chimiques	26
C. — Index des abréviations	26

PREMIERE PARTIE

Etude microbiologique de la Rhizosphère

Digitalis purpurea L. « in situ »

CHAPITRE I

ETUDE DE QUELQUES SOLS VOSGIENS PERMETTANT LE DEVELOPPEMENT SPONTANE DE <i>DIGITALIS PURPU-</i> <i>REA</i> L.	31
I. — Délimitation des zones de prélèvements des digitales	31

II. — Caractères microbiologiques et physico-chimiques des différents terrains	37
A. — Résultats	37
B. — Discussion	41
III. — Conclusion	42

CHAPITRE II

ETUDE DE L'EFFET RHIZOSPHERE DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L.	43
I. — Rhizosphère : généralités	43
A. — La microflore rhizosphérique ; ses caractères	44
B. — Action des plantes sur la microflore tellurique	49
C. — Action des micro-organiques de la rhizosphère sur la plante	51
II. — Rhizosphère de <i>Digitalis purpurea</i> L.	53
A. — Rhizosphère de la digitale pourprée en fonction de différents terrains	53
a) Résultats	54
b) Discussion	68
B. — Rhizosphère de la digitale pourprée en fonction des variations saisonnières et du stade de croissance de la plante	70
a) Résultats	71
b) Discussion	84
III. — Conclusion	87

CHAPITRE III

ETUDE QUALITATIVE DES GERMES DE LA RHIZOSPHERE DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L.	89
I. — Techniques d'isolement des germes	89
II. — Affinités tinctoriales et caractères morphologiques des germes isolés	91
A. — Résultats	91
B. — Discussion	93
III. — Besoins nutritionnels des germes isolés	93
A. — Technique d'étude	94
B. — Résultats	95
C. — Discussion	99
IV. — Conclusion	99

DEUXIEME PARTIE

Etude microbiologique de la Rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en culture expérimentale

CHAPITRE I

CULTURES EXPERIMENTALES DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L. SUR SOL DE DEVELOPPEMENT SPONTANE	103
I. — Technique de culture expérimentale	103
II. — Essais de culture expérimentale à partir de graines de <i>Digitalis purpurea</i> L. d'origine vosgienne, sur son propre sol	105
A. — Résultats	106
B. — Discussion	111
III. — Essais de culture expérimentale sur sol des Vosges avec des graines de <i>Digitalis purpurea</i> L. cultivée au Jardin Botanique	111
A. — Résultats	112
B. — Discussion	119
IV. — Conclusion	120

CHAPITRE II

CULTURES EXPERIMENTALES DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L. SUR SOL ARTIFICIEL	121
I. — Composition et principaux caractères de la Terre Uniforme ..	122
A. — Composition	122
B. — Caractères	123
C. — Conclusion	124
II. — Essais de culture expérimentale sur Terre Uniforme	126
A. — Résultats	127
B. — Discussion	134
III. — Etude de quelques facteurs susceptibles d'influencer le dévelop- pement de la digitale sur sol artificiel	135
A. — Généralités	135
B. — Expériences personnelles	138
1°) Réalisation du cycle végétatif complet dans des cultu- res de digitale	139
a) Résultats	141
b) Discussion ..	146

2°) Recherche de moyens susceptibles d'accélérer la croissance de digitales en culture	146
a) Essais de « forçage » sur les graines	147
b) Essais de « forçage » sur les plants de première année	149
3°) Conclusion	150
IV. — Etude de la rhizosphère de <i>Digitalis purpurea</i> L. cultivée sur sol artificiel et à divers stades de croissance	150
A. — Cycle de développement des digitales	150
B. — Détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques de la rhizosphère	152
a) Résultats	153
b) Discussion	162
c) Conclusion	163

TROISIEME PARTIE

Excrétions radicellaires chez *Digitalis purpurea* L. en culture hydroponique

CHAPITRE I

MISE EN EVIDENCE DES EXCRETIONS RADICELLAIRES. - GENERALITES	167
---	-----

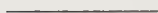
CHAPITRE II

CULTURE HYDROPONIQUE DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L.	171
A. — Technique utilisée	171
B. — Résultats	173

CHAPITRE III

ETUDE DES EXCRETIONS RADICELLAIRES DE <i>DIGITALIS PURPUREA</i> L.	177
I. — Action du liquide de culture hydroponique de <i>Digitalis purpurea</i> L. sur une microflore donnée	177
A. — Résultats	178
B. — Discussion	181

II. — Essais de caractérisation des excrétions radicellaires de <i>Digitalis purpurea</i> L.	181
A. — Caractérisation chimique	181
B. — Caractérisation « approchée »	182
1°) Résultats	182
2°) Discussion	186
III. — Action des excrétions radicellaires de <i>Digitalis purpurea</i> L. sur le pouvoir germinatif. - Comparaison avec d'autres complexes nutritifs	187
A. — Résultats	187
B. — Discussion	188
IV. — Conclusion	189
 Conclusions	 191
 Bibliographie	 197



Contribution à l'étude
de la Rizosphère de *Digitalis Purpurea* L.
Incidences sur sa Biologie

Ce travail a été effectué sous la direction de Monsieur le Professeur BÉNÉ qui n'a cessé de nous prodiguer ses directives et ses conseils bienveillants et de nous faire profiter de sa haute compétence en Microbiologie. Nous lui exprimons notre très vive gratitude et désirons que cet ouvrage soit le témoignage de toute notre reconnaissance et de notre respectueuse sympathie.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur FRANQUET qui a bien voulu accepter de présider le Jury de cette thèse. Il nous a toujours réservé un accueil bienveillant et ses conseils nous ont été une aide appréciée. Nous l'assurons de notre profond respect et lui témoignons toute notre gratitude.

A Monsieur le Professeur STEIMETZ qui, au cours de nos études, nous a prodigué son enseignement et qui a bien voulu faire partie de notre Jury de thèse, nous adressons nos bien vifs remerciements avec l'assurance de nos sentiments respectueux.

Nous avons eu l'honneur de suivre l'enseignement dispensé par Monsieur le Docteur POCHON, Chef du Service de Microbiologie du Sol à l'Institut Pasteur et nous avons admiré sa haute compétence scientifique. Nous avons été très sensible à la sollicitude avec laquelle il nous a encouragée et conseillée dans nos recherches. Ayant accepté de juger ce travail, nous lui exprimons notre bien vive reconnaissance et notre respectueuse gratitude.

Nous ne saurions oublier nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie qui, pendant nos études, nous ont dispensé leur enseignement et leurs conseils. Nous les prions de croire à notre respectueux attachement.

A nos Collègues du Laboratoire, Madame LASSEUR et Madame BALDO, nous gardons une reconnaissance infinie pour l'aide précieuse qu'elles nous ont apportée dans l'élaboration de ce travail.

PRÉLIMINAIRES

OBJET ET LIMITES DU TRAVAIL

L'approvisionnement de l'industrie pharmaceutique en drogues végétales a été, de tout temps, directement lié au problème de la récolte et donc tributaire de celle-ci. Bien des substances médicamenteuses étant à l'heure actuelle encore extraites des plantes, la nécessité de cultiver des plantes médicinales s'est rapidement fait sentir et de très bons résultats ont été acquis dans ce domaine durant ces dernières années. Quelques espèces n'ont cependant pu être cultivées valablement jusqu'à présent et ce, malgré de nombreuses recherches. C'est notamment le cas de la digitale pourprée qui continue à être récoltée sous sa forme spontanée.

En examinant les différents travaux tentés pour résoudre le problème des cultures de cette plante si importante pour la Pharmacopée, il nous est apparu que l'on avait, dans l'ensemble, totalement négligé l'étude d'un facteur pourtant majeur des sols en général, celui de la microflore tellurique.

Depuis les magnifiques travaux de WINOGRADSKY, si brillamment repris et développés en France par J. POCHON, de l'Institut Pasteur, on sait le rôle capital joué par les micro-organismes dans le sol, tant pour la structure de celui-ci que pour le développement végétal de couverture. En effet, les micro-organismes sont responsables de nombreux phénomènes biologiques et ils participent à toutes les réactions de synthèse et de minéralisation; ils assurent ainsi la nutrition des végétaux et participent à la constitution des substances de réserve. On peut donc penser qu'un sol donné permettra le développement d'une plante donnée, à condition que celle-ci trouve toutes les substances nécessaires à sa croissance, donc à condition aussi que les micro-organismes constitués en groupements spécifiques soient dans un équilibre dynamique favorable à la plante. Plus récemment, il est apparu, en Microbiologie du Sol, une notion nouvelle, celle de rhizosphère, qui intéresse plus spécialement les relations existant entre plante et micro-organismes au niveau de la zone radicellaire. Les connaissances acquises dans ce domaine, pour certaines plantes, ont largement contribué à

mieux comprendre leur biologie et même, dans quelques cas, à imaginer des traitements propres à stimuler la croissance végétale ou à la défendre contre certaines infections, en « réglant » la microflore rhizosphérique.

Les lacunes subsistant encore à l'heure actuelle dans la connaissance exacte de la biologie de *Digitalis purpurea* L., les échecs des cultures extensives de cette plante, des observations inexpliquées telles que la prolifération de celle-ci à la suite de coupes ou de feux de forêts, nous ont donc incité à suivre le développement de la digitale pourprée en fonction des caractères microbiologiques de son sol de développement et de sa rhizosphère.

En cela, nous avons surtout essayé de démontrer, à propos d'un cas particulier, l'intérêt général que peut présenter l'étude systématique microbiologique du sol de développement spontané d'une plante et de sa rhizosphère lorsque l'on veut tenter sa culture dans des conditions optimales. Plante médicinale par excellence, la digitale pourprée qui croît spontanément dans les Vosges, donc à proximité de Nancy, semblait toute indiquée pour l'étude que nous nous étions proposée.

Notre travail est divisé en trois parties qui constituent, dans notre esprit, la marche logique d'une étude de ce genre. Ces trois parties sont les suivantes :

PREMIÈRE PARTIE. — Etude microbiologique de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. « in situ ».

Après avoir déterminé les caractères microbiologiques et physico-chimiques de quelques sols vosgiens sur lesquels la digitale pourprée se développe spontanément, nous avons envisagé une étude quantitative et qualitative de la rhizosphère de cette espèce végétale et l'importance de certains facteurs influençant la micropopulation tellurique au niveau des racines.

DEUXIÈME PARTIE. — Etude microbiologique de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en culture expérimentale.

Afin de préciser l'importance du facteur plante dans l'effet rhizosphère, nous avons réalisé des cultures de digitales pourprées issues de graines d'origines différentes, d'une part, sur sol vosgien permettant leur développement spontané, d'autre part, sur un sol artificiel. Les caractères de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L., en culture expérimentale, ont ainsi pu être comparés à ceux obtenus avec des plantes dans leur habitat naturel et au même stade de croissance.

TROISIÈME PARTIE. — Excrétions radicellaires de *Digitalis purpurea* L.
en culture hydroponique.

Les substances excrétées modifient-elles la microflore d'un sol permettant le développement spontané de la digitale pourprée et influencent-elles le pouvoir germinatif ? C'est à cette double question que nos essais ont tenté de répondre.

Avant d'entreprendre l'exposé des résultats obtenus au cours de ce travail, nous rappellerons brièvement les caractères de la digitale pourprée et les essais de culture qui ont été tentés, sans grand succès d'ailleurs, avec cette plante, puis, nous indiquerons les techniques générales de Microbiologie du Sol utilisées tant pour l'analyse des terrains que celle de la rhizosphère. Les techniques plus particulières employées dans certains essais seront exposées en cours de travail.

DIGITALIS PURPUREA L. :

CARACTÈRES GÉNÉRAUX

La digitale appartient à la famille des Scrofulariacées et seule l'espèce *Digitalis purpurea* L. dont les feuilles constituent la partie officinale, est reconnue par la Pharmacopée Française (30). Connue dans le langage populaire sous le nom de Doigtier de Notre-Dame, Gant de Notre-Dame, Gantelet, c'est une belle plante herbacée, bisannuelle qui abonde dans les lieux incultes, en bordure des chemins, à l'orée des forêts.

DESCRIPTION

A l'état spontané, les graines tombées sur le sol germent dès l'automne ou au printemps suivant pour donner, au cours de ce premier été, une simple rosette de feuilles (Pl. I, A) qui dépérit à l'approche de l'hiver. L'année suivante, il se forme une nouvelle rosette de feuilles au centre de laquelle se développe la tige florifère (Pl. I, B). Après la fructification, la plante disparaît.

Au moment de la floraison, la digitale pourprée mesure de 0,80 à 1,50 m de haut.

Les racines ramifiées s'enfoncent à faible profondeur, entre 5 et 10 cm de la surface du sol; elles atteignent une longueur de 50 à 60 cm en moyenne. D'un diamètre inférieur à 1 cm au collet, ces racines s'amenuisent en se ramifiant et elles forment un chevelu radicellaire inextricable et friable qui s'insinue parfois entre les rochers.

« Les feuilles sont ovales, oblongues, atténuées à la base en un pétiole ailé et triangulaire, longues de vingt à trente centimètres et larges de six à huit centimètres, à limbe grossièrement et inégalement crénelé. La face supérieure est verte, bosselée et proéminente entre les nervures, presque glabre ou recouverte d'une pubescence molle; la face inférieure est beaucoup plus pâle et plus pubescente, parcourue

par un réseau de nervures très proéminentes et blanchâtres. La nervure médiane possède un seul faisceau libéro-ligneux en arc ouvert. Les feuilles portent des poils de deux sortes : les uns longs, pluricellulaires unisériés, les autres courts, beaucoup plus grêles et terminés par une tête sécrétrice » (Codex). Si les feuilles de la rosette basale sont de grande taille, les feuilles caulinaires, par contre, deviennent de plus en plus petites et effilées au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'inflorescence.

L'inflorescence est du type « grappe » allongée; les fleurs apparaissent au mois de juillet, elles s'épanouissent de la base au sommet et sont disposées du même côté de la tige (Pl. I, B). La corolle, très grande, est formée par un tube étroit et blanchâtre à la base qui s'évase en une cloche irrégulière constituée par 4 à 5 lobes inégaux de couleur rouge vif; l'intérieur de la corolle est plus pâle, présentant vers la gorge, sur la ligne médiane de la lèvre antérieure, des poils et des taches arrondies rouge vif cerclées de blanc (Pl. I, 1). Si dans les terrains acides et en altitude les fleurs présentent une coloration rouge vif, dans les terrains calcaires, où la croissance est réduite, elles prennent une teinte rose pâle et même blanche.

Quant au fruit, il est constitué par une capsule septicide bivalve dans sa partie supérieure (Pl. I, 4). A maturité, il s'en échappe un très grand nombre de graines de petite taille, mesurant de 1/2 à 1 mm de diamètre (Pl. I, 5).

D'après les observations de P. DUQUENOIS (43), il est très difficile d'affirmer que la digitale est une espèce strictement bisannuelle. Selon les conditions atmosphériques, elle pourrait également être trisannuelle ou même pluriannuelle. En effet, si pendant l'hiver des températures assez basses et d'une durée assez longue sont nécessaires pour lever une brachyblastie, les jours de printemps ne permettent que la croissance des brachyblastes. Selon la notion d'héméropériodisme ce n'est que pendant les jours longs que se développe l'inflorescence. Ceci a pour conséquence que dans un semis de *Digitalis purpurea* L. (43) une faible proportion de plants seulement fleurit la deuxième année, les autres ne fournissant une tige florale qu'au cours de la troisième ou même de la quatrième année.

HABITAT NATUREL

Les digitales se développent spontanément par plages dans les lieux incultes, les champs en friche, les jeunes taillis, sur les talus et en bordure des forêts. Cette plante exige une certaine insolation pour se



Pl. 215. Digitale pourrée — *Digitalis purpurea* L.
Plantes médicinales. Planche 36.

PLANCHE 1

développer. C'est ainsi qu'à la suite de coupes de bois, on constate qu'un ou deux ans après l'abattage des arbres, les jeunes taillis sont envahis par les digitales dont le nombre diminue au fur et à mesure que les arbustes grandissent pour finalement disparaître totalement pendant 15 à 20 ans et ne réapparaître qu'après de nouvelles coupes. Ceci implique que les graines conservent leur pouvoir germinatif pendant très longtemps.

La présence spontanée des digitales pourprées s'observe sur les terrains siliceux : ce sont, en effet, des plantes nettement calcifuges et l'acidité des terrains semble indispensable à leur bon développement. Les mesures systématiques du pH des sols des stations de digitales dans les Vosges ont permis à E. SCHAEERER (101) de relever des valeurs s'échelonnant entre pH 3.8 et pH 5.8.

En France, on trouve *Digitalis purpurea* L. en abondance dans les Vosges, tant sur le versant lorrain que sur le versant alsacien, dans le Morvan, dans certaines contrées du Massif Central et en Bretagne. Elle est totalement absente dans les Alpes et le Jura : on a voulu expliquer l'absence de digitale sur ces terrains siliceux par le manque de manganèse, élément dont la présence, à la dose de 0.50 g par kg de terre, était considérée comme indispensable à son développement.

Du point de vue phyto-sociologique et selon P. BLAISE (13) qui a étudié ce problème plus particulièrement dans la région de Raon-l'Étape (Vosges), *Digitalis purpurea* L. « est toujours sylvatique et associée au Sapin, au Hêtre, à l'Epicéa, généralement dans des forêts mixtes. Cette espèce apparaît aussitôt et de façon préférentielle lorsque la couche d'humus a subi une dégradation du fait de l'Homme (coupes, incendies, feux de bûcherons, trous d'obus, éboulis) de sorte qu'elle fait partie d'associations végétales labiles, en pleine évolution et disparaît en trois ou quatre ans, lorsqu'une association sylvatique a reconquis le terrain. »

RÉCOLTE ET ESSAIS DE CULTURE

Le Codex (édition de 1949) précise que « les feuilles de digitale doivent être récoltées sur la plante sauvage et croissant dans les lieux secs, pendant la deuxième année de végétation et au moment où la plante va fleurir ». Les observations de E. PERROT (80) font cependant apparaître que les feuilles de la rosette des plants qui n'ont pas fleuri, cueillies en automne de la première année de végétation, sont physiologiquement aussi actives que celles récoltées au cours de la deuxième année. Des variations dans l'activité pharmacologique sont, par contre,

liées à la région de production et c'est ainsi que les digitales des Vosges paraissent les plus riches en principes actifs et sont surtout retenues pour l'extraction de la digitaline cristallisée.

La récolte des digitales spontanées restant cependant soumise à des aléas, de nombreux essais ont été tentés pour réaliser des cultures de *Digitalis purpurea* L. qui permettraient d'obtenir un rendement convenable de plantes et une drogue d'excellente qualité. Les recherches ont surtout tenu compte des caractères physico-chimiques des sols à développement spontané, et on a donc essayé de rétablir ceux-ci. MASCRE et LEFRANÇOIS (74, 68) ont ainsi réalisé des cultures en sols acides amendés par des engrais minéraux (sels de potassium, acide phosphorique, nitrate de sodium, sulfate d'ammonium et sulfate de manganèse); le rendement fut triplé.

P. DUQUENOIS et E. SCHAEERER (41) démontrèrent que les digitales mises en culture sur terrain peu acide n'ont besoin que de quantités relativement faibles de manganèse et de fer. De plus, des cultures réalisées dans la plaine d'Alsace sur un terrain argilo-calcaire de pH 7,2-7,3 et renfermant 8 à 15 % de carbonate de calcium ont permis d'obtenir des rendements convenables dans certaines conditions (42).

Tous les essais culturaux, indépendamment des résultats obtenus, font ressortir que la composition du sol joue un grand rôle : la digitale pourprée ne se développe jamais spontanément sur un sol calcaire et dépourvu de manganèse; lorsqu'elle y est plantée, elle végète, dégénère plus ou moins rapidement et meurt tôt ou tard.

Plus récemment, afin de respecter des conditions écologiques, des cultures ont été réalisées dans les Vosges sur des emplacements fraîchement déboisés. Alors que le travail en montagne rencontre des difficultés techniques déjà très grandes, il est apparu, de plus, que le rendement, évalué par le poids de feuilles à l'hectare, était encore plus faible que celui obtenu pour les cultures entreprises en plaine (44).

Cette dernière observation laisse donc à penser que la nature chimique du sol n'est pas le seul facteur influençant la croissance des digitales. Notre travail a d'ailleurs tenté de le démontrer.

TECHNIQUES UTILISÉES POUR L'ANALYSE DES SOLS ET DE LA RHIZOSPHERE

Les techniques utilisées en Microbiologie du Sol sont très particulières. Cela tient au fait que, dans la terre, les micro-organismes forment des groupements définis par leur action physiologique et ces différents groupes, s'ils ont une action autonome, sont, malgré tout, en relation les uns avec les autres, créant des réactions simultanées synergiques ou antagonistes.

Aussi le choix des techniques microbiologiques a toujours été guidé par un principe fondamental, à savoir, recréer au laboratoire des conditions « écologiques » pour permettre aux inter-réactions de se produire et faire ensuite une étude aussi exacte que possible des phénomènes qui se passent dans le sol. En choisissant des milieux de culture permettant la prolifération élective de tel ou tel groupe de germes, on caractérise les groupements fonctionnels en étudiant leur métabolisme biochimique plutôt que la morphologie des micro-organismes qui les constituent. En effet, un germe, en culture pure, n'étant plus sous l'emprise de la concurrence vitale peut révéler un rôle qu'il ne parviendrait pas à exercer dans le sol (107).

C'est pourquoi WINOGRADSKY (118, 119) a préconisé de laisser les micro-organismes dans leur milieu naturel en employant des techniques de mise en culture aussi proches que possible de celles trouvées par les germes dans le sol : culture sur terre de prélèvement additionnée de divers substrats ou culture sur plaques de silico-gel imprégnées de substances nutritives.

Cependant ces méthodes strictement écologiques ne donnent que des résultats qualitatifs; aussi J. POCHON et ses collaborateurs (81) ont-ils mis au point un ensemble de techniques consistant à utiliser des milieux liquides électifs vis-à-vis des fonctions à analyser et ensemencés avec des suspensions-dilutions de la terre à étudier. On carac-

térise ainsi les principaux groupements fonctionnels de micro-organismes d'un sol donné, en déterminant, à l'aide d'un test chimique en général, le seuil de positivité en fonction du taux de dilution de la terre et du temps d'incubation.

La valeur des résultats dépendra du soin apporté à cette technique qui doit être renouvelée dans des conditions strictement identiques. Et si on peut reprocher un caractère artificiel à cette méthode, elle a, par contre, l'avantage de fournir des résultats, dépourvus certes de valeur absolue, mais assez aisés à interpréter et comparables entre eux.

A chaque analyse bactériologique de terre, on adjoint une mesure du pH, la détermination de la teneur en humus, azote et carbone, du rapport C/N; ces caractères physico-chimiques constituent, en effet, un élément indispensable à l'étude biologique des sols.

Si la détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques reste identique quel que soit l'échantillon à analyser, le mode de prélèvement, la préparation de l'échantillon et l'expression des résultats diffèrent lorsqu'il s'agit de déterminer les caractéristiques d'un sol ou d'étudier la rhizosphère d'une plante. Ces deux cas seront envisagés ci-après.

A. — ETUDE D'UN SOL

Nous étudierons successivement le mode de prélèvement, la préparation de l'échantillon, la détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques et l'expression des résultats que nous avons utilisés au cours de nos expériences.

I. — PRÉLÈVEMENT.

La technique de prélèvement d'un sol a été la suivante : avec une pelle désinfectée par un lavage soigneux à l'eau, puis à l'alcool, on prélève 5 à 6 portions de 100 grammes de terre environ à des points distants de quelques mètres les uns des autres. Les prélèvements sont faits autant que possible dans un endroit dépourvu de végétation, ceci pour éviter les effets rhizosphère des plantes, et à une profondeur variant de 5 à 10 cm. Les différentes portions de sol sont réunies dans un récipient, préalablement désinfecté par un lavage à l'eau, puis à l'alcool, et constituent un échantillon moyen sur lequel seront effectués les différents essais.

II. — PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON.

Avant d'entreprendre l'étude des caractères microbiologiques, l'échantillon moyen de sol est abandonné pendant 24 heures à la température du laboratoire afin de stabiliser le taux d'humidité et de pouvoir comparer les résultats obtenus avec différents prélèvements.

III. — DÉTERMINATION DES CARACTÈRES MICROBIOLOGIQUES.

Pour chaque analyse de terre, nous avons procédé aux déterminations suivantes :

- Evaluation de la micropopulation.
 - Numération de la microflore totale.
 - Numération des Champignons.
- Evaluation des groupements fonctionnels.
 - Cycle de l'azote.
 - Fixation de l'azote moléculaire.
 - fixation aérobie.
 - fixation anaérobie.
 - Protéolyse.
 - Ammonification.
 - Nitrification.
 - recherche des germes nitreux.
 - recherche des germes nitriques.
 - Dénitrification.
 - Cycle du carbone.
 - Amylolyse.
 - Cellulolyse.
 - cellulolyse aérobie.
 - cellulolyse anaérobie.
 - Cycle du soufre.
 - Sulfato-réduction.

Pour la détermination de toutes ces activités, nous avons utilisé la technique des suspensions-dilutions de terre dont les dernières mises au point ont été publiées par J. POCHON et P. TARDIEUX en 1962 (87). Nous rappellerons le protocole que nous avons adopté au cours de nos différents essais, le principe et l'interprétation des diverses activités microbiennes. Pour la composition et la préparation des milieux de culture employés, nous avons donné systématiquement, pour chaque groupe étudié, les numéros de pages du manuel de J. POCHON et P. TARDIEUX (87) auquel on se reportera.

a) *Préparation des suspensions-dilutions de terre.*

La préparation des suspensions-dilutions de sol est une opération très importante et très délicate dont dépend la valeur des résultats. aussi des remarques s'imposent-elles :

— Il faut obtenir une dissociation convenable des grains de terre. ce qui est indispensable pour libérer les germes et les répartir valablement dans les liquides de dilution. Pour cela, il faut broyer la prise d'essai, très soigneusement, à sec, jusqu'à obtention d'une poudre très fine à laquelle on ajoute ensuite de l'eau distillée stérile. L'addition d'eau se fait par petites fractions, réunies ensuite dans un récipient stérile.

— Afin de déterminer les diverses activités microbiologiques, dans les mêmes conditions, on prépare une quantité suffisante de chacune des suspensions-dilutions du sol pour ensemençer les différents milieux.

Pour ce faire, on opère de la façon suivante : dans un mortier stérilisé avec son pilon, on broie 5 grs de l'échantillon de terre à analyser, jusqu'à obtention d'une poudre très fine. On ajoute ensuite 45 ml d'eau distillée stérile, par petites fractions et en poursuivant le broyage. Les diverses fractions de suspension sont introduites dans un erlenmeyer stérile. On a ainsi une suspension-dilution de terre 10^{-1} .

A partir de cette première dilution, on réalise une gamme de dilutions en progression géométrique. Dans une série d'erlenmeyers stériles, on mesure exactement 45 ml d'eau distillée stérile. On prélève 5 ml de la première dilution que l'on reporte dans un deuxième erlenmeyer puis 5 ml du deuxième que l'on reporte dans un troisième, etc. Le tableau suivant résume ces manipulations :

Erlenmeyers	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau distillée stérile	—	45	45	45	45	45	45	45	45	45
Suspension-dilution de terre 10^{-1} ..	50	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Suspension-dilutions de terre	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}

Avant chaque prélèvement, on agite soigneusement la suspension dans l'erlenmeyer et on homogénéise par 3 ou 4 aspirations et refoulements de pipette. On prélève alors 5 ml qui sont introduits dans l'erlenmeyer où l'on fera la dilution suivante. Il est indispensable de changer de pipette à chaque dilution pour ne pas entraîner des germes des

premières dilutions qui auraient adhéré au verre. Il faut également réaliser des agitations convenables pour obtenir des suspensions-dilutions valables.

Les différentes suspensions-dilutions de sol étant ainsi préparées, elles seront immédiatement utilisées pour l'ensemencement des divers milieux de culture.

b) *Détermination des différentes activités microbiennes.*

La détermination des diverses activités microbiennes est faite en ensemençant des milieux électifs avec des quantités données de chacune des suspensions-dilutions de sol. L'incubation est faite à 28° C.

Les résultats sont exprimés de la manière suivante :

— soit en calculant le nombre de germes par gramme de terre, ramené au poids sec, à l'aide des tables de Mac CRADY,

— soit en calculant la dilution moyenne limite à un temps donné. Ce calcul est complété par le tracé d'une courbe d'activité du groupement traduisant la progression du métabolisme dans les dilutions en fonction du temps d'incubation. Le point de jonction de l'axe des abscisses et des ordonnées correspondant au temps 0 et à la dilution 0. les courbes d'activité présentent un aspect ascendant qui nous a paru d'une interprétation plus facile pour les comparaisons faites avec d'autres études dynamiques.

EVALUATION DE LA MICROPOPULATION

1° *Numération de la microflore totale.*

La numération est faite en milieu liquide à l'extrait de terre (87/p. 30) et on détermine après 14 jours le nombre de germes par gramme de terre, ramené au poids sec.

2° *Numération des Champignons.*

On utilise une technique en milieu solide mise au point par MONTÉGUT *.

* Cette technique nous a été indiquée au cours du Certificat de Microbiologie du Sol enseigné à l'Institut Pasteur en septembre 1960.

Le milieu utilisé est le suivant :

Extrait de malt ou Maltea Moser	10 gr.
Gélose	30 gr.
Eau distillée	1000 ml

Le milieu est réparti à raison de 100 ml par erlenmeyer et stérilisé à 115° C pendant 30 minutes; puis il est maintenu à l'état liquide dans un bain-marie réglé à 50° C. Chaque échantillon de sol exige 5 erlenmeyers. On introduit respectivement dans chacun 2 ml — 1,5 ml — 0,75 ml — 0,50 ml — 0,25 ml de la suspension-dilution 10⁻³. Après mélange par agitation, on répartit le contenu de chaque erlenmeyer dans 5 boîtes de Pétri stériles. Les 25 boîtes de Pétri ainsi ensemencées sont incubées à 28° C pendant 7 jours.

Les colonies fongiques sont comptées sur chacune des boîtes de Pétri. Sachant que dans les 25 boîtes de Pétri le volume total de la suspension-dilution 10⁻³ est égal à 5 ml (ce qui correspond à 5 mgr de terre), on exprime le résultat en nombre de Champignons par gramme de terre, ramené au poids sec.

EVALUATION DES GROUPEMENTS FONCTIONNELS

Cycle de l'azote

1° *Fixation de l'azote moléculaire.*

a) *Fixation aérobie.*

La caractérisation de *Azotobacter* basée sur la formation d'un voile est faite après culture sur milieu liquide bien aéré et ne contenant pas d'azote combiné (87/p. 49). Après 14 jours d'incubation, on détermine le nombre de germes par gramme de terre, ramené au poids sec.

b) *Fixation anaérobie.*

La mise en évidence de *Clostridium pastorianum* par dégagement gazeux est réalisée par ensemencement sur milieu liquide peu aéré ne contenant pas d'azote combiné (87/p. 51). Après 14 jours d'incubation, on détermine le nombre de germes par gramme de terre, ramené au poids sec.

2° *Protéolyse.*

La gélatine étant la seule source de carbone et d'azote dans un milieu salin, on apprécie le pouvoir protéolytique des germes par la liquéfaction de la gélatine (87/p. 56). On évalue l'activité protéolytique sur la base d'une courbe établie en fonction du temps et des dilutions.

3° *Ammonification.*

L'asparagine étant dans un milieu liquide la seule source d'azote et de carbone, on recherche sa transformation en ammoniacque par le réactif de Nessler (87 p. 58). On évalue l'activité ammonifiante en traçant une courbe en fonction du temps et des dilutions.

4° *Nitrification.*

Le pouvoir nitrificateur des germes est mis en évidence, en premier lieu, par « les germes nitreux » capables de transformer le sulfate d'ammonium, source d'azote, en nitrites ou nitrates caractérisés par la diphénylamine sulfurique et, en second lieu, par « les germes nitriques » capables seulement de transformer les nitrites en nitrates, caractérisés également par la diphénylamine sulfurique après élimination des nitrites (87/p. 59).

Après 14 jours d'incubation, on détermine pour les uns et pour les autres « l'indice de nitrification » qui est égal à la puissance de la dilution moyenne.

5° *Dénitrification.*

Le nitrate de potassium étant dans un milieu liquide la source d'azote, il est transformé par certains germes en nitrites et même en ammoniacque. On apprécie la disparition des nitrates à l'aide du réactif à la diphénylamine sulfurique (87/p. 63). On évalue l'activité dénitrifiante par une courbe établie en fonction du temps et des dilutions.

Cycle du carbone

1° *Amylolyse.*

L'amidon représentant, dans un milieu liquide, la seule source de carbone, il est utilisé par certains germes et sa disparition est constatée par le réactif iodo-ioduré (87 p. 67). On évalue l'activité amylolytique par une courbe établie en fonction du temps et des dilutions.

2° *Cellulolyse.*

a) Cellulolyse aérobie.

Dans un milieu liquide, la seule source de carbone est fournie par une feuille de papier filtre qui sera utilisée par les germes cellulolytiques attaquant la fibre de papier (87 p. 76). Après 14 jours d'incubation, on détermine le nombre de germes cellulolytiques par gramme de terre, ramené au poids sec.

b) Cellulolyse anaérobie.

La cellulose est ajoutée dans un milieu liquide sous forme d'une suspension de poudre de cellulose dont l'attaque se manifeste par un dégagement gazeux (87/p. 80). Après 14 jours d'incubation, on détermine le nombre de germes cellulolytiques par gramme de terre, ramené au poids sec.

Cycle du soufre

Sulfato-réduction.

Un milieu liquide contenant un sulfate, de l'azote minéral et un donateur d'hydrogène (87/p. 82) est réparti dans des tubes obturés avec un bouchon de caoutchouc traversé par un tube de verre. Au moment de l'ensemencement, on ajoute dans chaque tube 0,2 ml d'une solution à 10 % de sel de Mohr. Chaque suspension-dilution de terre est répartie à raison de 0,5 ml par tube. On fait alors le vide dans les tubes et on scelle le petit tube de verre, réalisant ainsi une culture en anaérobiose.

Après 15 jours d'incubation, la présence d'un précipité noir de sulfure de fer met en évidence les germes responsables de la formation d'hydrogène sulfuré et on détermine le nombre de germes sulfato-réducteurs par gramme de terre, ramené au poids sec.

c) Détermination du taux d'humidité.

Au moment de l'ensemencement sur les différents milieux des suspensions-dilutions de terre, un poids déterminé de l'échantillon de sol à analyser est placé dans une petite capsule tarée à une température de 100° C jusqu'à obtention d'un poids constant. On détermine alors, par pesée, le pourcentage d'eau du sol en expérience, au moment de l'ensemencement.

Nous avons résumé le protocole d'une analyse microbiologique d'un échantillon de sol dans les tableaux I et II.

TABLEAU I

	Groupements fonctionnels												Cycle du soufre
	Cycle de l'Azote						Cycle du Carbone						
	Fixation de N		Protéololyse	Ammonification	Nitrification		Dénitrification	Amylolyse	Cellulolyse		Sulfato-réduction		
					germes nitreux	germes nitriques			Aérobiose	Anaérobiose			
Dilutions utilisées	10 ⁻³ à 10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹ à 10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻³	10 ⁻¹ à 10 ⁻⁸	10 ⁻¹ à 10 ⁻³	10 ⁻¹ à 10 ⁻³	
Nombre de tubes de milieu de culture essayés avec chaque dilution	5	5	4	3	4	4	3	3	3	3	3	3	
Volumen de chaque dilution par tube de milieu de culture	1 ml	0,5 ml	0,5 ml	1 ml	0,5 ml	0,5 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	0,5 ml	
Nombre de jours d'incubation à 23° C	14	14	15	15	14	14	15	15	14	14	14	15	
Résultats	nombre de germes par g. de terre	nombre de germes par g. de terre	courbe d'activité et dilution moyenne après 5 et 15 jours	courbe d'activité et dilution moyenne après 5 et 15 jours	indice	indice	courbe d'activité et dilution moyenne après 5 et 15 jours	courbe d'activité et dilution moyenne après 5 et 15 jours	nombre de germes par g. de terre	nombre de germes par g. de terre	nombre de germes par g. de terre	nombre de germes par g. de terre	

TABLEAU II

	Champignons
Dilution utilisée	10^{-3}
Nombre de boîtes de Pétri utilisées avec chaque erlenmeyer ensemencé	5
Volume de dilution dans chaque erlenmeyer contenant 100 ml de milieu gelosé	2 ml 1,5 - 0,75 - 0,5 - 0,25 -
Nombre de jours d'incubation à 28° C	7
Résultats	Nombre de champignons par gr. de terre

IV. — DÉTERMINATION DES CARACTÈRES PHYSICO-CHIMIQUES

1° Détermination du pH.

Une partie de l'échantillon de sol est mise en suspension dans l'eau distillée, jusqu'à obtention d'une masse pâteuse. On détermine le pH avec un pH-mètre à électrode de verre.

2° Dosage de l'azote total.

Selon la technique de KJELDAHL (87/p. 95), la minéralisation se fait à chaud par l'acide sulfurique concentré. La distillation en pré-

sence de lessive de soude permet de doser par acidimétrie l'ammoniac dégagé. On exprime les résultats en grammes d'azote pour 100 grs de terre, ramenés au poids sec.

3° Dosage du carbone.

Selon la technique de ANNE modifiée (87/p. 96), on oxyde à froid par le bichromate de potassium en milieu sulfurique et on fait un titrage en retour par le sel de Mohr en présence de diphénylamine sulfurique comme indicateur. On exprime les résultats en grammes de carbone pour 100 grs de terre, ramenés au poids sec.

4° Détermination du rapport C/N.

5° Dosage de l'humus.

Selon la technique de R. CHAMINADE (87/p. 98), ce dosage est basé sur une extraction de l'humus par l'oxalate d'ammonium, une précipitation par l'acide sulfurique, puis une redissolution du précipité par la soude et titrage par manganimétrie. On exprime les résultats en grammes d'acide humique pour 100 grs de terre, ramenés au poids sec.

B. — ETUDE DE LA RHIZOSPHERE D'UNE PLANTE

La rhizosphère d'une plante se divise en deux zones : la zone éloignée qui est constituée par la terre retenue par le chevelu radicellaire, mais n'adhérant pas aux racines, et la zone proche constituée par la terre adhérent aux radicules. Il importe donc d'étudier ces deux zones séparément. De plus l'analyse de la rhizosphère, tant proche qu'éloignée, doit être faite comparativement à celle du sol non rhizosphérique sur lequel la plante se développe. Tous nos essais en vue de l'étude de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. ont été effectués simultanément sur les deux zones rhizosphériques et sur le sol témoin.

I. — PRÉLÈVEMENTS.

a) Prélèvements des plants de digitale pourprée.

Avec une pelle désinfectée par un lavage soigneux à l'eau, puis à l'alcool, on délimite la zone racinaire de la plante en traçant un sillon à une distance telle qu'on ne lèse pas le chevelu radicellaire qui, pour la digitale, s'étend à une faible profondeur mais sur une assez vaste surface. On soulève l'ensemble racines, sol et parties aériennes, en

évitant de laisser échapper la terre de toute cette zone. La plante entière, ainsi prélevée avec tout son substrat, est placée dans un récipient préalablement désinfecté.

b) *Prélèvement de l'échantillon de sol témoin.*

Selon la technique décrite précédemment (p. 13), on prélève à des points distants de quelques mètres de la digitale recueillie, 5 ou 6 portions de sol qui, réunies, constitueront l'échantillon moyen.

II. — PRÉPARATION DE DIVERS ECHANTILLONS.

a) *Echantillons de rhizosphère.*

La digitale, dans l'état où elle a été récoltée, est abandonnée pendant 24 heures, au laboratoire, à une température voisine de 20° C, ce qui permet une dessiccation de la terre et, par conséquent, une séparation plus facile des deux fractions de rhizosphère. Le taux d'humidité, dans ces conditions, s'est toujours révélé inférieur à 20 %.

1° *Préparation de l'échantillon de rhizosphère éloignée.*

La plante, étant retirée de son dispositif de transport, laisse échapper de son chevelu radicellaire, par suite de la dessiccation, une certaine quantité de terre qui est ainsi éliminée spontanément. On maintient ensuite la digitale au-dessus d'une feuille de papier sulfurisé et on secoue légèrement. On recueille alors le sol n'adhérant pas intimement aux racines et qui constitue, après homogénéisation, l'échantillon de rhizosphère éloignée. On estime que tous les grains de terre sont à une distance inférieure à 1 cm des radicelles.

2° *Préparation de l'échantillon de rhizosphère proche.*

Les racines de la digitale sont, après récolte de la rhizosphère éloignée, introduites dans un bécher d'une assez grande capacité, stérilisé préalablement, dans lequel on ajoute un volume connu d'eau distillée stérile, suffisant pour recouvrir tout le système racinaire. Pour assurer un bon entraînement de la terre adhérent aux radicelles, on soumet ce dispositif à une agitation de trois minutes, en dessinant sur un plan des mouvements irréguliers, en général sous forme de 8. Les racines étant retirées et exprimées, on détermine par pesée la quantité d'eau distillée stérile qu'il est nécessaire d'ajouter pour obtenir une dilution au 1/10. L'extrait sec à 100° C, déterminé sur une partie aliquote, permettra de fixer le poids exact de terre entraînée. Cette dilution au 1/10 constitue l'échantillon de rhizosphère proche.

b) *Echantillon de sol témoin.*

L'échantillon moyen de sol non rhizosphérique est placé dans les mêmes conditions de temps et de température avant d'être soumis à l'analyse.

III. — DÉTERMINATION DU TAUX D'HUMIDITÉ.

Au moment de l'analyse microbiologique, un poids déterminé des échantillons de sol témoin et de rhizosphère éloignée, d'une part, de la suspension-dilution 10^{-1} de rhizosphère proche, d'autre part, est placé à 100° C jusqu'à obtention d'un poids constant. On détermine ainsi le pourcentage d'eau des divers échantillons.

IV. — DÉTERMINATION DES CARACTÈRES MICROBIOLOGIQUES.

La rhizosphère proche étant obtenue par lavage des racines et entraînement de la terre y adhérent, l'étude des caractères microbiologiques par la technique des suspensions-dilutions s'imposait. Toutes les analyses ont été réalisées selon cette méthode.

a) *Préparation des suspensions-dilutions des différents échantillons.*

1^o *Echantillon de rhizosphère éloignée.*

Un poids de 5 grs d'échantillon de rhizosphère éloignée est traitée selon la technique décrite pour un échantillon de sol (p. 15).

2^o *Echantillon de rhizosphère proche.*

La dilution 10^{-1} constituant l'échantillon de rhizosphère proche est introduite dans un mortier stérile et l'opération de broyage est poursuivie jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Pour assurer une pulvérisation convenable des grains de terre, ce qui est beaucoup plus difficile en présence d'eau, on décante au maximum le liquide de dilution, puis on broie le dépôt au pilon aussi longtemps qu'il est nécessaire. On ajoute ensuite l'eau de rinçage du chevelu radicellaire. Cette suspension-dilution 10^{-1} sert à préparer les dilutions suivantes selon le protocole adopté.

3^o *Echantillon de sol témoin.*

La préparation des suspensions-dilutions est celle qui a déjà été décrite dans l'étude d'un sol.

b) *Evaluation des diverses activités microbiennes.*

L'évaluation de la micropopulation, d'une part, et des groupements fonctionnels, d'autre part, est déterminée en ensemençant les diverses suspensions-dilutions des trois échantillons (rhizosphère éloignée, rhizosphère proche et sol témoin) selon le schéma décrit précédemment dans l'étude d'un sol.

Dans l'étude de la rhizosphère, l'expression des résultats tient compte des caractères microbiologiques de chaque échantillon et de l'effet rhizosphère.

1° Les caractères microbiologiques de chacun des échantillons analysés (rhizosphère éloignée, rhizosphère proche et sol témoin) sont traduits :

- par le nombre de germes par gramme de terre pour l'évaluation de la micropopulation (microflore totale et Champignons) et l'activité de certains groupements fonctionnels (fixation de l'azote en aérobiose et en anaérobiose, cellulolyse en aérobiose et en anaérobiose, sulfato-réduction).
- par la dilution moyenne limite aux cinquième et quinzième jour d'incubation pour les groupements fonctionnels dont l'étude est dynamique (protéolyse, ammonification, dénitrification, amylolyse).
- par l'indice de nitrification pour les germes de ce groupement fonctionnel.

2° L'effet rhizosphère comprend l'effet rhizosphère éloignée et l'effet rhizosphère proche, l'un et l'autre étant évalués par rapport au sol témoin non rhizosphérique. L'effet rhizosphère s'exprime de la manière suivante :

- par le rapport R/S, c'est-à-dire le nombre de germes dans un gramme de terre (ramené au poids sec) de la rhizosphère, divisé par le nombre de germes dans un gramme de terre (ramené au poids sec) du sol témoin prélevé à une certaine distance des racines. Le rapport R/S est établi pour la micropopulation (microflore et Champignons) et pour différents groupements fonctionnels (fixation de l'azote en aérobiose et en anaérobiose, cellulolyse en aérobiose et en anaérobiose, sulfato-réduction).
- par la différence des puissances de 10, changées de signe, des dilutions moyennes obtenues le cinquième et le quinzième jour avec la rhizosphère et le sol témoin. Cette expression de l'effet rhizosphère est utilisée pour les groupements fonctionnels dont

l'étude est dynamique (protéolyse, ammonification, dénitrification, amylolyse).

- par la différence des indices de nitrification de la rhizosphère et du sol témoin pour les germes appartenant à ce groupement fonctionnel.

V. — DÉTERMINATION DES CARACTÈRES PHYSICO-CHIMIQUES.

Pour compléter l'étude des caractères microbiologiques, les caractères physico-chimiques tels qu'ils ont été précisés précédemment dans l'étude d'un sol, ont été déterminés sur les échantillons de sol témoin et de rhizosphère éloignée.

C. — INDEX DES ABRÉVIATIONS

Dans les tableaux groupant les résultats de nos divers essais, nous avons, pour la présentation, été obligés d'adopter des abréviations dont nous donnons ici la signification :

Echantillons analysés :

- T = échantillon de sol témoin.
- R.E. = échantillon de rhizosphère éloigné.
- R.P. = échantillon de rhizosphère proche.

Détermination des caractères microbiologiques :

- N = cycle de l'azote.
- C = cycle du carbone.
- S = Cycle du soufre.
- G/gr = nombre de germes par gramme de terre (ramené au poids sec).
- C/gr = nombre de champignons par gramme de terre (ramené au poids sec).
- D.M. = dilution moyenne limite qui est égale à :
$$\frac{\text{nombre total de tubes donnant un test positif.}}{\text{nombre de tubesensemencés par dilution.}}$$
- In. = Indice = puissance de la dilution moyenne limite.
- J = temps d'incubation à 28° C.
- R/S =
$$\frac{\text{nombre de germes par gramme de terre de la rhizosphère.}}{\text{nombre de germes par gramme de terre du sol témoin.}}$$

≠ In. — différence des indices des échantillons de rhizosphère et de tions moyennes obtenues avec les échantillons de rhizosphère et de sol témoin.

≠ Ex. = différence des puissances de 10, changées de signes, des dilu-sol témoin.

Détermination des caractères physico-chimiques :

gr % = quantité des différents constituants exprimée en gramme pour 100 grammes de terre (ramenés au poids sec).

C/N = $\frac{\text{quantité de carbone.}}{\text{quantité d'azote.}}$

PREMIÈRE PARTIE

Etude microbiologique
de la rhizosphère
de *Digitalis purpurea* L. "in situ"

Dans cette première partie de notre travail, nous nous sommes proposé d'étudier la digitale pourprée dans son habitat naturel.

Le premier chapitre est consacré aux caractères microbiologiques de certains sols vosgiens sur lesquels le développement spontané de la digitale a pu être observé. Cette étude a été complétée par quelques données physico-chimiques qui sont souvent le reflet des processus biologiques.

Dans un deuxième chapitre, nous avons étudié la rhizosphère de la digitale pourprée et les facteurs susceptibles de l'influencer.

Poursuivant nos recherches sur les inter-actions « micro-organismes-sol-plante », nous avons, dans un troisième chapitre, tenté de faire une étude qualitative de la rhizosphère de digitale, en essayant de déterminer les caractères morphologiques des germes isolés du sol témoin et de la zone radicellaire et leurs besoins nutritionnels.

CHAPITRE I

ETUDE DE QUELQUES SOLS VOSGIENS PERMETTANT LE DEVELOPPEMENT SPONTANÉ DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

Digitalis purpurea L. est une espèce végétale très répandue dans le massif vosgien, tant sur le versant alsacien que sur le versant lorrain. L'étude que nous avons entreprise sur la rhizosphère de cette plante nous a tout d'abord amené à déterminer, pour les zones où nous avons récolté les digitales pourprées, les caractères microbiologiques et physico-chimiques des terrains que nous avons choisis comme lieu de prélèvement.

I. — DELIMITATION DES ZONES DE PRELEVEMENTS DES DIGITALES

Digitalis purpurea L. se développe spontanément dans les Vosges. Rapportés par E. SCHAEERER, les renseignements fournis par E. ISSLER, sur l'aire de répartition de la digitale pourprée dans le massif vosgien s'établissent comme suit :

« *Digitalis purpurea*, plante siliciphile, subatlantique, est dans son optimum écologique dans les Vosges cristallines entre 500 et 900 m d'altitude. Elle partage ainsi ses exigences édaphiques et climatiques avec le Sapin dont elle est le fidèle compagnon et une des caractéristiques de l'association à *Fagus sylvatica* et *Abies pectinata* (le *Fageto-Abietum* de l'étage moyen des Vosges cristallines).

« Evitant l'ombre trop épaisse de la forêt, elle s'associe, le long des chemins, surtout dans les clairières, après une coupe, et dans les



Digitalis purpurea L.
dans les Vosges



trous de lumière, à l'intérieur de la forêt, à *Epilobium angustifolium*, *Senecio fuchsii*, *Prenanthes purpurea*, *Knautia silvatica*, *Phyteuma nigrum* et *P. spicatum*. *Cardamine impatiens*, *Myosotis silvatica* et d'autres espèces montagnardes.

« Comme espèce subatlantique montagnarde, *D. purpurea* descend sur le versant occidental des Vosges plus bas que sur le versant opposé, favorisée par le climat plus frais et plus humide des Vosges lorraines. »

Pour tous nos essais effectués sur *Digitalis purpurea* L. à l'état spontané, nous avons prélevé ces plantes sur le versant lorrain des Vosges et nous avons toujours vérifié les observations décrites par E. ISSLER. Nous avons choisi, comme zones d'expériences, le massif du Donon, la Vallée de la Plaine et la Vallée du Rabodeau. Dans cette contrée, en effet, les digitales pourprées se développent spontanément, par plages, et la récolte des feuilles, en vue de l'extraction des hétérosides cardiotoniques, se fait d'une façon systématique. Toute cette région appartient à ce que les géographes (12) nomment les Basses-Vosges ou Vosges du Nord, qui sont caractérisées par leur structure à prédominance gréseuse.

Les prélèvements des différents terrains où se développent spontanément les digitales pourprées ont été soumis à des essais ayant pour but de déterminer leurs caractères physico-chimiques sommaires et leurs caractères microbiologiques. Les analyses ont porté sur six échantillons de sols différents, quatre ayant été prélevés dans des zones diverses du massif du Donon, un dans la Vallée de la Plaine, un dans la Vallée du Rabodeau.

Ces six points sont : la Croix-de-Fer, le col de Prayé, les Minières, la Crache, la Vallée de la Plaine et la Vallée du Rabodeau; ils présentent les caractéristiques suivantes :

1° La Croix-de-Fer :

675 mètres d'altitude, N-NW du Donon. La forêt de sapins s'éclaircit et il y a une trouée constituée par des broussailles assez basses. Les digitales sont éparses de part et d'autre de la route forestière.

2° Le col de Prayé :

790 mètres d'altitude, S-SW du Donon. Les prélèvements ont été effectués sur les talus longeant la portion de route entre le col de Prayé et le carrefour des Minières. La forêt est assez claire dans cette zone.

3° *Les Minières :*

700 mètres d'altitude, S-SE du Donon. Les digitales se développent à l'orée de la forêt sur le talus bordant le chemin qui relie le village des Minières au Carrefour des Minières.

4° *La Crache :*

675 mètres d'altitude, W-SW du Donon. On a repéré des plants de digitales pourprées sur les abords de la route forestière qui traverse une forêt assez dense de Conifères de grande taille.

5° *Vallée de la Plaine :*

315 m d'altitude, en bordure de la route nationale 392, à 6,7 km de Raon-l'Etape, un petit terrain en friche à l'orée de la forêt est couvert de digitales pourprées.

6° *Vallée du Rabodeau :*

534 m d'altitude, dans la forêt de Ménil dominant Senones, au lieu dit « La Loge des Gardes ». Les digitales croissent sur les talus à proximité de l'intersection des quatre routes forestières où la forêt est d'ailleurs mixte et peu dense.

Ces six points de prélèvements sont indiqués sur les cartes au 1/25.000 de la région intéressée.

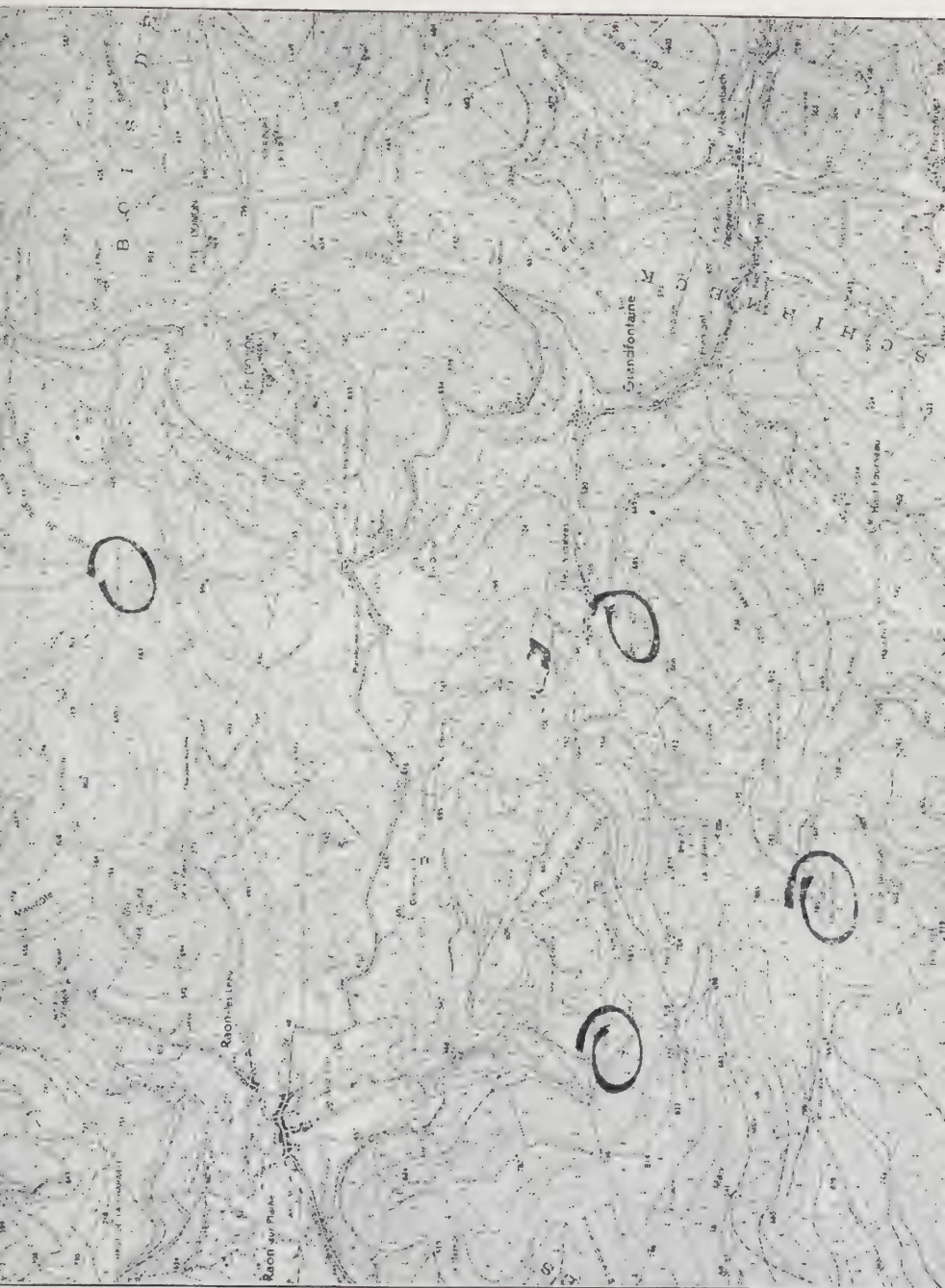


PLANCHE IV

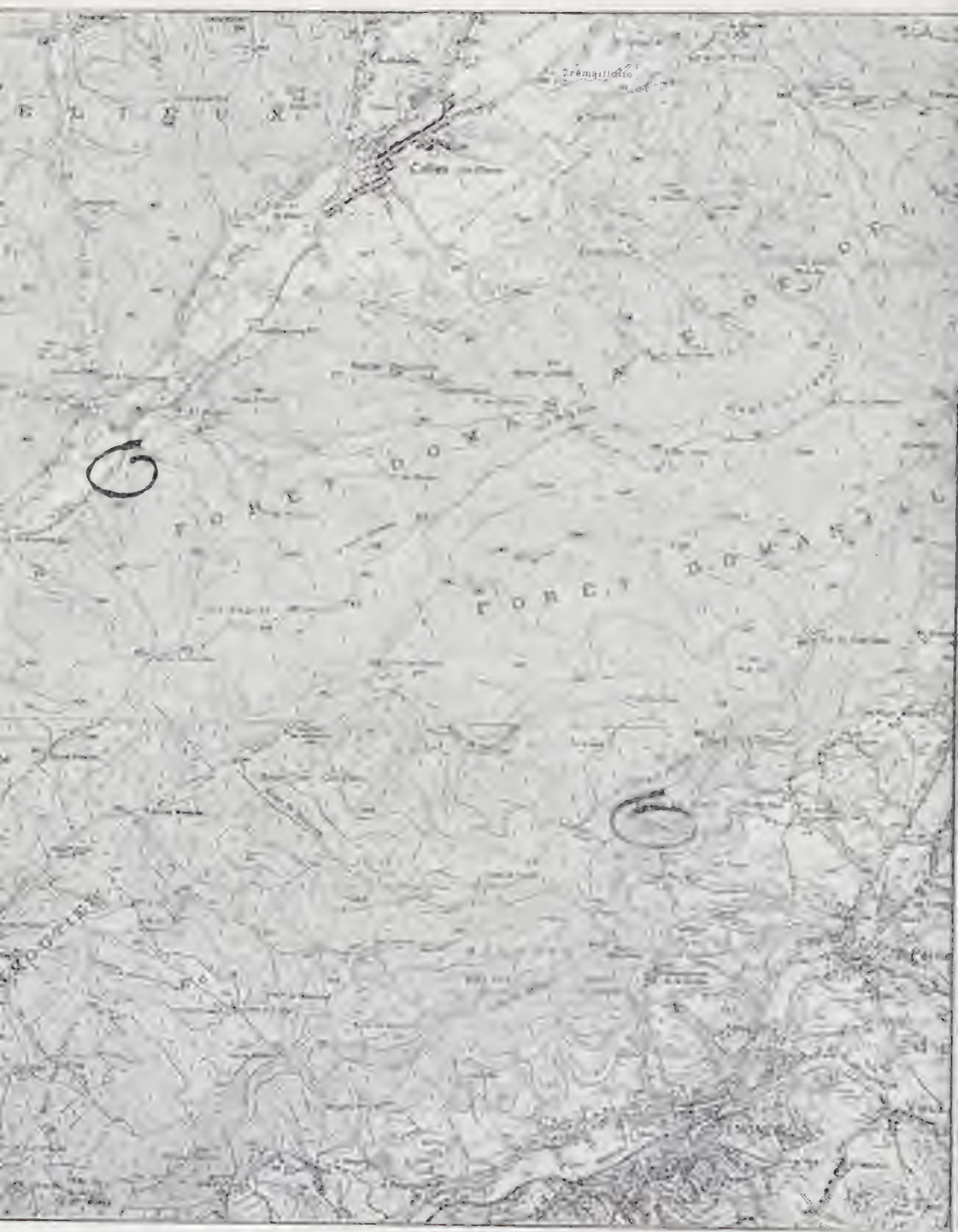


PLANCHE V

II. — CARACTERES MICROBIOLOGIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DES DIFFERENTS TERRAINS

L'étude des caractères microbiologiques et physico-chimiques a porté sur les échantillons de sol prélevés aux points délimités précédemment.

Les prélèvements ont été effectués, selon la technique décrite au début de ce travail, à la fin du mois de juillet, à l'époque de la floraison de la digitale pourprée, et les analyses réalisées suivant le protocole adopté pour nos essais.

a) *Résultats.*

Les résultats obtenus lors de cette étude microbiologique sont rapportés dans le tableau III et les figures 1 et 2. Quant aux caractères physico-chimiques de ces différents sols vosgiens, ils sont groupés dans le tableau IV.

TABLEAU III
Caractères microbiologiques de quelques sols vosgiens
permettant le développement spontané de *Digitalis purpurea* L.

	JOURS	Microflore totale G/gr	Champignons C/gr	N										C				S Sulfato-réduction G/gr			
				Fixation N		Protéolyse	Ammonification		Nitrification		Dénitrification	Amylolyse	Cellulolyse								
				Aérobiose G/gr	Anaérobiose G/gr		5 DM	15 DM	5 DM	15 DM			14 In	germes nitreux	14 In	germes nitriques	5 DM		15 DM	14 G/gr	Anaérobiose G/gr
			7	14	14	5	15	5	15	5	15	5	15	14	11	15					
La Croix de Fer		40 400	10 900	0	50	10 ⁻²	0	10 ^{-5,3}	10 ^{-5,3}	0	0	10 ^{-0,3}	10 ^{-1,3}	0	10 ^{-0,7}	0	250	0			
Col de Prayé		4 550	12 520	4	50	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ^{-4,5}	10 ⁻⁵	0	0	0	10 ⁻²	10 ^{-1,3}	10 ^{-3,3}	0	0	8			
Les Minières		2 550	9 600	0	0	0	0	10 ^{-3,9}	10 ^{-4,1}	0	0,4	-0	10 ^{-0,7}	0	10 ^{-0,5}	0	0	0			
La Crache		206 500	58 530	60	260	10 ^{-0,6}	10 ^{-1,5}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	0	0	10 ^{-0,2}	10 ^{-2,4}	10 ⁻²	10 ^{-3,3}	0	112	0			
Vallée de la Plaine		1 802 000	70 800	4	1 030	10 ^{-2,3}	10 ^{-3,3}	10 ^{-5,5}	10 ^{-5,8}	0	0	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,1}	9	260	51			
Vallée du Rabodeau		8 320	26 400	0	135	10 ^{-0,3}	10 ^{-0,8}	10 ^{-4,8}	10 ^{-5,2}	0	0	0	10 ^{-1,6}	10 ^{-0,7}	10 ^{-1,2}	0	15	0			

Fig. 1. — Courbes des activités fonctionnelles de quelques sols vosgiens permettant le développement spontané de *Digitalis purpurea* L.

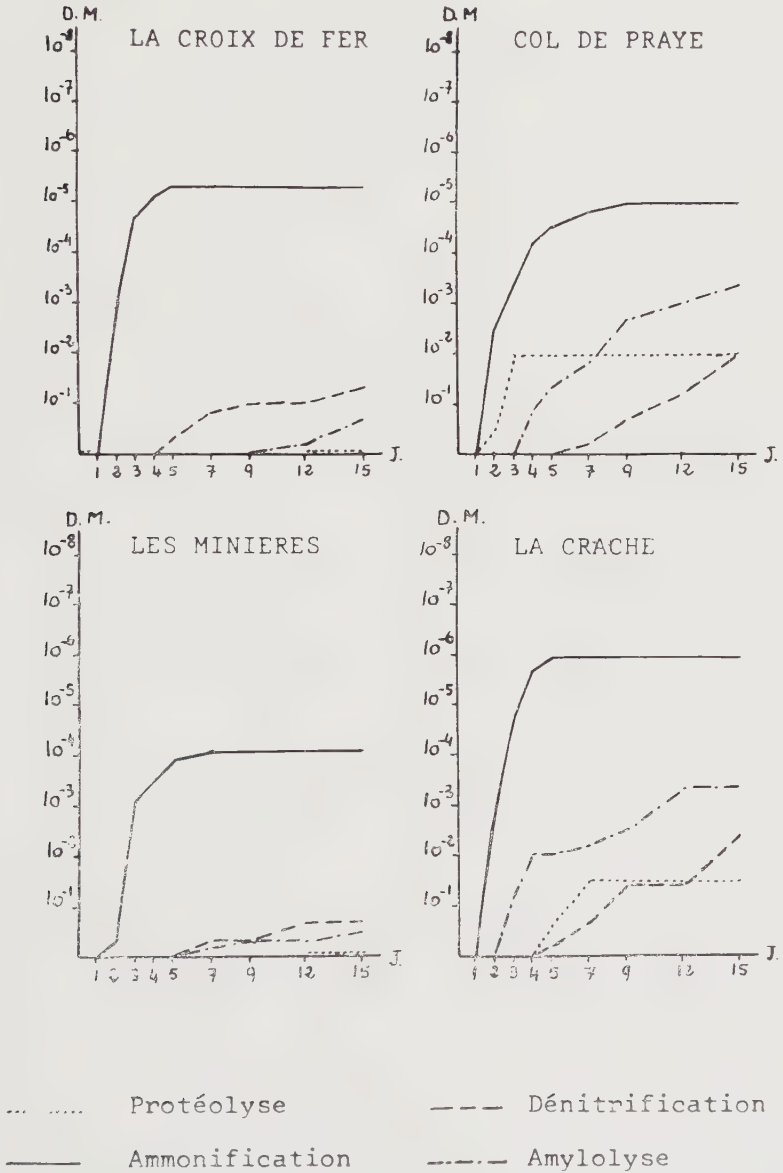


Fig. 2. — Courbes des activités fonctionnelles de quelques sols vosgiens permettant le développement spontané de *Digitalis purpurea* L.

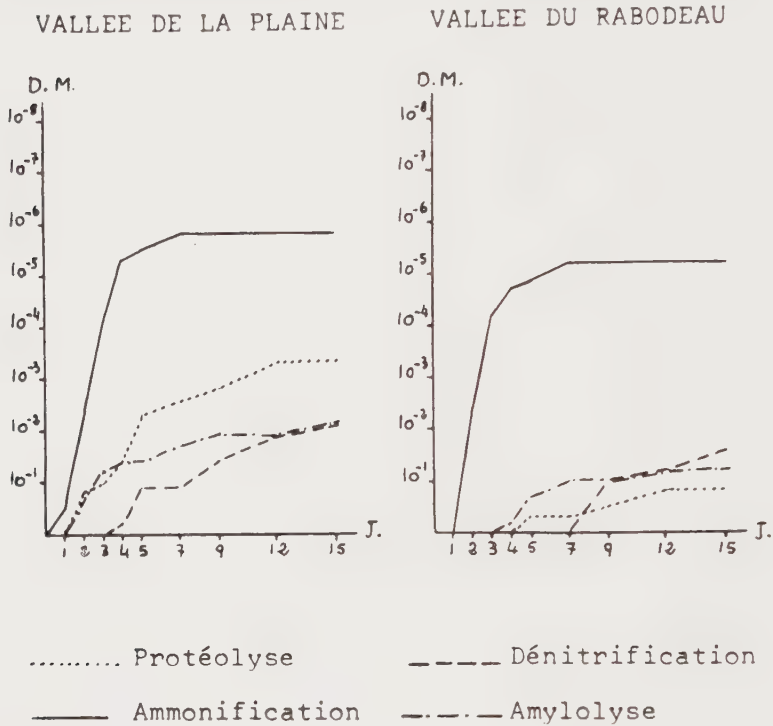


TABLEAU IV

Caractères physico-chimiques de quelques sols vosgiens permettant le développement spontané de *Digitalis purpurea* L.

	Taux d'humidité	pH	Humus gr %	Azote gr %	Carbone gr %	Rapport C/N
La Croix de Fer	1,62 %	4,85	0,032	0,038	0,114	3
Col de Prayé	1,71 %	4,9	0,105	0,070	0,519	7,41
Les Minières	1,98 %	4,6	0,030	0,045	0,279	6,2
La Crache	15,37 %	4,3	0,346	0,252	1,425	5,65
Vallée de la Plaine	3,07 %	4,6	0,367	0,248	1,086	4,37
Vallée du Rabodeau	4,04 %	4,55	0,127	0,063	0,426	6,68

b) *Discussion.*

1° De l'examen des caractères microbiologiques observés sur ces six échantillons de terrain (Tableau III et courbes d'activité fig. 1 et 2), on peut conclure que :

- on observe de très grosses différences dans l'évaluation de la microflore totale. Les échantillons du Col de Prayé, des Minières et de la Vallée du Rabodeau montrent un nombre de germes totaux du même ordre de grandeur; ils sont très pauvres en micro-organismes. Le terrain de la Vallée de la Plaine est nettement plus riche que les autres.
- pour le nombre des Champignons, les différences sont moins marquées; de toutes façons, le chiffre des Champignons, et ce, pour tous les échantillons de sols, est faible mais plus particulièrement pour la Croix-de-Fer, le Col de Prayé et les Minières.
- l'étude des groupements fonctionnels laisse apparaître pour tous ces sols une faible activité des micro-organismes, aussi bien dans le cycle de l'azote, du carbone que du soufre. Certaines activités ne sont pas représentées ou ne le sont qu'à des taux presque négligeables: c'est le cas notamment de la nitrification, de la cellulolyse en aérobiose et en anaérobiose. En ce qui concerne la fixation de l'azote atmosphérique, les germes aérobies responsables de cette fixation sont ou absents ou présents à des taux minimes seulement, les germes anaérobies étant un peu plus nombreux, sauf dans l'échantillon des Minières, où ils sont totalement absents.
- l'examen des courbes d'activité montre que l'ammonification se fait à un taux moyen mais très voisin pour les divers échantillons de sols. La protéolyse, nulle dans les sols de la Croix-de-Fer et des Minières, est faible pour les quatre autres terrains. Enfin la dénitrification et l'amylolyse, bien que caractérisables pour ces six prélèvements, restent des activités peu développées.

2° En examinant le tableau IV, groupant les caractères physico-chimiques des six échantillons de sols, où croît, à l'état spontané, la digitale pourprée, il ressort que :

- les sols sont acides, leur pH variant de 4,3 à 4,9.
- le rapport C/N est faible, variant de 3 à 7,4.
- le taux de substances organiques est variable suivant les terrains. Il est à noter que pour les échantillons de la Crache et de la Vallée de la Plaine, donnant des quantités presque identiques, tant en humus, azote et carbone organique, ces prélèvements

- de sols ont été faits à proximité de très belles forêts, dont la taille et le port des Sapins, en particulier, étaient remarquables.
- le taux d'humidité est très faible. Il est certain que les échantillons de sols ont été prélevés à la fin du mois de juillet et au cours d'un été particulièrement dépourvu de précipitations atmosphériques (1962) ce qui est assez rare pour la région. Une exception est à signaler ; le sol de la Crache a un pourcentage d'eau de 15,37 % mais la forêt, assez dense, peut expliquer ce taux plus élevé.

III. — CONCLUSION

Des divers examens qui viennent d'être rapportés, on peut définir les sols vosgiens où *Digitalis purpurea* L. se développe spontanément comme suit : sols acides, à rapport C/N faible et à activité microbologique relativement peu intense malgré quelques différences d'un cas à l'autre.

CHAPITRE II

ETUDE DE L'EFFET RHIZOSPHERE DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

La rhizosphère a fait, depuis quelques années, l'objet de nombreux travaux. Ces recherches ont contribué à mettre en évidence son existence, ses principaux caractères, les facteurs l'influençant; elles ont également permis de démontrer le rôle du système radicellaire des plantes sur les micro-organismes telluriques et réciproquement le rôle de la microflore de la zone radicellaire sur le développement de la plante.

Ayant déterminé les caractères microbiologiques et physico-chimiques de quelques sols vosgiens où *Digitalis purpurea* L. se développe à l'état spontané, nous avons étudié l'effet rhizosphère de cette plante dans son habitat naturel et les différentes variations que l'on peut observer en fonction du stade de croissance de cette espèce végétale et des saisons.

Avant de passer à l'exposé de nos résultats dans ce domaine, nous rappellerons succinctement l'essentiel des connaissances actuelles concernant la rhizosphère.

I. — RHIZOSPHERE : GENERALITES

Le système radicellaire des plantes supérieures est entouré d'une vaste population microbienne dont le nombre et l'activité sont plus importants que dans le substrat environnant. On a appelé « rhizosphère » la zone plus ou moins grande de sol où s'exercent des interactions très complexes entre les micro-organismes et les racines des végétaux (53). En effet, la micropopulation qui constitue autour des

racines une sorte de manchon serait, d'une part, conditionnée par les excréments radicellaires et fournirait, d'autre part, par les produits de son métabolisme, les éléments nécessaires au développement de la plante. Aussi, les inter-actions entre macro-organismes et micro-organismes, au niveau de la zone radicellaire, ont-elles une signification considérable pour la fertilité du sol et pour la croissance de l'espèce végétale considérée. Il est certain que, chez une plante saine, tous les germes ne font que contribuer à son équilibre, mais si, pour une cause apparemment inexplicable, un germe pathogène ou parasite parvient à se multiplier, il peut alors être responsable d'un déséquilibre fâcheux et entraîner ainsi le dépérissement et la mort de la plante.

Le problème de la rhizosphère a été étudié par de nombreux chercheurs, mais la diversité des techniques utilisées a souvent fourni des résultats dont l'interprétation reste délicate. Plusieurs mises au point bibliographiques permettent cependant d'avoir une vue d'ensemble des principaux aspects de cette question qui s'établissent pratiquement comme suit :

- action des micro-organismes de la rhizosphère sur la croissance des plantes (28).
- action des plantes supérieures sur les micro-organismes du sol (58).
- actions réciproques (113, 107, 84, 4).

C'est sur la base de ces grandes mises au point, et aussi d'un certain nombre de publications fragmentaires, que nous avons résumé ci-après les principaux aspects du problème de la rhizosphère avant de passer à l'exposé de nos propres résultats.

Cette étude générale envisagera succinctement la constitution de la microflore de la rhizosphère, puis les inter-actions entre plante et micro-organismes en déterminant successivement le rôle et les influences de chacun de ces deux éléments sur l'autre.

A) LA MICROFLORE RHIZOSPHERIQUE : SES CARACTÈRES

La zone rhizosphérique est donc un habitat très favorable à la prolifération de nombreux micro-organismes présentant des actions métaboliques différentes. Ces micro-organismes ont été étudiés par diverses techniques que nous allons rappeler; mais la diversité même des méthodes de recherche est la cause directe des résultats souvent discordants que l'on a enregistrés. On a utilisé des techniques de microscopie directe et des techniques culturales.

Les techniques de microscopie directe dérivent de la méthode des lames de CHOLODNY (23) qui consiste à introduire dans le sol des lames de verre de telle façon que les racines se développent à leur surface. Ces lames, retirées du sol, sont colorées et examinées. On obtient ainsi des renseignements sur la morphologie des organismes présents à la surface des racines et des radicelles. Les Bactéries sont disposées sous forme de colonies ou de chaînes de cellules individuelles: les Champignons et les Actinomycètes ne sont pas observés d'une manière régulière; quant aux Protozoaires, ils sont relativement peu nombreux et présents plus particulièrement à la surface des tissus épidermiques (69, 78). Ces examens microscopiques ont démontré qu'à faible distance des racines, la population bactérienne n'est déjà plus affectée par la plante.

Les techniques culturales consistent à recueillir la terre adhérant aux racines et à faire des ensemencements sur milieux non sélectifs. On pourra noter ainsi une influence quantitative et une influence qualitative exercées par la zone radicellaire des plantes sur les micro-organismes.

Des numérations de colonies sur plaques de gélose, à partir de dilutions de terre, révèlent une augmentation très nette du nombre des micro-organismes dans la zone radicellaire par rapport à celui du sol non soumis à l'action des racines. On appelle « effet rhizosphère » cette stimulation quantitative au niveau des radicelles et on l'exprime par le rapport R/S, c'est-à-dire nombre de micro-organismes dans une unité de poids de terre de la rhizosphère (R) divisé par le nombre de micro-organismes dans cette même unité de poids de sol prélevé à une certaine distance des racines ou sol témoin (S).

L'effet rhizosphère est considérablement plus grand pour les Bactéries que pour les Algues, les Protozoaires, les Champignons ou les Actinomycètes. C'est ainsi que STARKEY R.-L. (105), dès 1931, dénombre dans la rhizosphère de Trèfle 200 fois plus de Bactéries et seulement 10 fois plus de Champignons et d'Actinomycètes que dans le sol témoin.

Les recherches qualitatives sur la rhizosphère ont surtout porté sur la flore bactérienne. C'est ainsi que les Bactéries de la rhizosphère ont été étudiées quant à leurs caractères morphologiques, taxonomiques et physiologiques.

1° Les Bactéries à Gram négatif, courtes, représentent toujours un pourcentage plus important dans la rhizosphère que dans le sol témoin, le pourcentage des bâtonnets courts, des formes coccoïdes et des Bacilles sporulés Gram positif diminuant. Il n'y a, apparemment, ni stimulation, ni inhibition sélectives des bâtonnets Gram variable (groupe *Arthro-*

bacter) Cocci ou bâtonnets longs et ne formant pas de spores. Ainsi, dans la rhizosphère du Tabac, on a noté 44 % de Bactéries courtes Gram négatif, alors qu'on en trouve seulement 13 % dans le sol témoin. De plus, si à ce pourcentage accru on ajoute le fait que le nombre de Bactéries est considérablement plus grand au voisinage des racines, on peut juger de l'importance de la stimulation (70). Même quand, dans un but d'expérience, on travaille sur des rhizosphères artificielles (culture de plantes sur des solutions nutritives ou sur des sols en jachère additionnés de produits d'excrétion), on constate que ce sont toujours les Bactéries Gram négatif qui sont favorisées par rapport aux Bactéries Gram positif et à celles formant ou ne formant pas de spores (99, 109, 21).

2° Les bâtonnets Gram négatif rencontrés dans la rhizosphère appartiennent surtout aux genres *Pseudomonas* (95), *Achromobacter* et quelquefois *Agrobacterium*. C'est donc vis-à-vis de ces trois genres que l'influence des racines apparaît la plus marquée. Il est certain que d'autres Bactéries sont trouvées dans la zone radicellaire, en particulier *Arthrobacter*, *Mycoplana*, *Brevibacterium*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Sarcina*, *Alginomonas*, *Bacillus* et *Mycobacterium*, mais leur présence est beaucoup moins constante (103). Les germes anaérobies sont également affectés par le système radicellaire (57); ceci peut être attribué à la tension réduite en oxygène résultant de la respiration racinaire et microbienne. Les espèces productrices de pigments telles que *Arthrobacter globiforme* et *Chromobacterium* sont favorisées par la proximité des racines. Quant aux Bacilles aérobies sporulés du genre *Bacillus*, dont le nombre est réduit dans la zone rhizosphérique, il semble exister des différences qualitatives selon les espèces; en effet *B. circulans*, *B. brevis* et *B. polymyxa* y sont généralement plus fréquents que dans le sol témoin (29).

3° Dans cette population bactérienne très dense de la zone radicellaire, il existe des actions compétitives réciproques; mais la croissance très rapide de ces organismes semble être favorisée par leur aptitude à une compétition plus effective et par une activité biochimique supérieure (61, 94). C'est pourquoi la microflore de la rhizosphère a des possibilités plus grandes pour effectuer des processus biochimiques que les organismes se développant dans les terres en friche (120). Les activités des différents groupements fonctionnels dans les grands cycles biologiques de l'azote et du carbone, en particulier, ne fournissent que des résultats fragmentaires et difficilement comparables. Cependant si les résultats relatifs aux fixateurs d'azote aérobies et anaérobies sont très variables, on observe avec constance une activité ammonifiante (45) et dénitrifiante (65) nettement stimulée au contact des radicelles. Il en est de même pour les germes responsables de la cellulolyse (6).

On peut également étudier les Bactéries de la rhizosphère en fonction de leurs besoins nutritionnels. Les recherches de ce type ont surtout été menées par LOCHHEAD et son école. Cet auteur divise les Bactéries en 7 groupes (71) sur la base de leurs besoins ou de leur stimulation par différents facteurs non spécifiques, ou leur mélange, à savoir :

- des acides aminés,
- des vitamines du groupe B,
- des acides aminés + des vitamines du groupe B,
- de l'extrait de levure,
- de l'extrait de terre,
- de l'extrait de levure + de l'extrait de terre.

Cette classification appliquée aux Bactéries de la rhizosphère a montré, d'une manière constante, une stimulation des organismes ayant besoin d'acides aminés et des espèces se développant en l'absence de facteurs de croissance préformés (114). Simultanément, la proportion de Bactéries à besoins nutritifs complexes (extrait de sol ou extrait de sol + extrait de levure) diminue.

Quant à l'influence de la rhizosphère sur les Champignons, elle est plus nette sur la répartition des espèces que sur leur nombre. Le développement de certains germes tels que *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* ou *Chaetomium* est nettement stimulé et ils se trouvent le plus souvent à l'état végétatif (2, 3).

La flore rhizosphérique est influencée par de nombreux facteurs, dont les principaux sont surtout liés à la nature du sol où la plante se développe, à l'espèce végétale et à son stade de croissance.

On ne sait pas si la composition du sol agit directement sur les micro-organismes ou sur la croissance de la plante. ADATI (1) et CLARCK F.-E. (27) notent des rapports R/S décroissant progressivement pour les divers sols suivants : limon, sable, argile, humus. Les rapports R/S sont d'autant plus élevés que le sol témoin est moins riche en micro-organismes (83). La population microbienne des sols en jachère et non rhizosphérique est influencée par des additions de substances organiques: par contre, cette influence est nulle au niveau des racines (59). Il semble donc que la nature de la plante soit beaucoup plus importante que la fertilité du sol proprement dite.

Selon les espèces végétales on peut noter des différences dans la microflore de la rhizosphère. Ces différences sont attribuables à la structure des racines, à leur mode de pénétration dans le sol et aux produits d'excrétion. En règle générale, on peut dire que les Légumineuses ont un effet rhizosphère plus prononcé que les herbes et que

les plantes de couverture ont une influence particulièrement nette sur les Bactéries. Les plantes bisannuelles, à cause de leur longue période de croissance, exercent une stimulation plus prolongée que les plantes annuelles.

Pour la plupart des espèces végétales, l'effet rhizosphère augmente parallèlement au développement de la plante, la stimulation étant décelable vers le troisième ou quatrième jour de développement (111, 93). RIVIÈRE J. (90) étudiant l'effet rhizosphère du Blé (variété Fylgia), en culture sur limon argileux, note une stimulation maxima au moment du tallage, l'effet rhizosphère éloignée variant toujours parallèlement à l'effet rhizosphère proche, mais d'une façon très atténuée. Il semble que l'influence bénéfique exercée par les jeunes plantes sur les micro-organismes serait due aux excréctions radicellaires; au contraire, en fin de croissance des plantes, les hydrates de carbone utilisables sont très rapidement métabolisés, ce qui détermine une diminution de la population microbienne.

Les quelques facteurs qui viennent d'être envisagés sont donc susceptibles de modifier, quelquefois considérablement, la nature et l'importance de la microflore radicellaire. Si ces facteurs sont connus, il en est beaucoup d'autres qui nous échappent encore et il semble que ce soit précisément à de tels facteurs qu'il faille rapporter les divergences de résultats observées d'un auteur à l'autre.

A ces facteurs écologiques, il convient également d'en ajouter d'autres plus directement liés aux techniques d'analyses. Par exemple, la zone rhizosphérique étudiée et la profondeur à laquelle le prélèvement a été fait, jouent un rôle important. Habituellement, on distingue deux zones dans la rhizosphère :

- la rhizosphère proche ou rhizoplan qui est constituée par la couche de terre adhérent aux radicelles;
- la rhizosphère éloignée, qui est constituée par la terre retenue par le chevelu radicellaire, mais n'adhérant pas aux racines et qui est recueillie après une légère agitation. *

Les échantillons de sol prélevés de plus en plus près des racines dénotent une augmentation bactérienne de plus en plus importante par rapport au sol témoin (106). Mais la profondeur du prélèvement est une cause de variations importantes dans les résultats; des examens faits à des points différemment distants de la surface du sol mettent en évidence une diminution de la population bactérienne et fongique, de la plupart des activités physiologiques par rapport au sol témoin et en fonction de la profondeur (112).

L'étude de ces différents facteurs ayant une action sur la microflore de la zone radicellaire permet de comprendre la diversité des résultats obtenus par les chercheurs et l'impossibilité de déterminer d'une manière générale les caractères quantitatifs et qualitatifs de la rhizosphère.

B) ACTION DES PLANTES SUR LA MICROFLORE TELLURIQUE

Il est indiscutable que la microflore tellurique est influencée, dans une large mesure, par la plante en croissance. La plus importante contribution de la plante à l'effet rhizosphère réside dans l'apport de produits d'excrétion et de substances chimiques issues de tissus excoriés. Ces substances servent alors de source d'énergie pour le métabolisme carboné et azoté des micro-organismes et elles agissent aussi, dans certains cas, comme facteurs de croissance. Ce double mécanisme d'excrétion et de libération des constituants des tissus altérés donne des produits finaux qui varient d'une plante à l'autre. C'est peut-être ce fait qui explique l'absence de *Azobacter* dans la rhizosphère du Maïs (85) alors que ce germe est capable de se développer dans la rhizosphère du Blé (66). De même la stimulation des Bactéries cellulolytiques dans la rhizosphère répond à une disponibilité de grandes quantités de tissu cellulosique lors de la dégradation des excoriations radicellaires (67).

Quelques substances « abandonnées » par les plantes ont pu être caractérisées, mais la liste en est incomplète. Quant aux substances excrétées, elles comprennent des substances minérales (ion carbonate) et des substances organiques constituées surtout par des acides organiques et des acides aminés (15); elles doivent être considérées comme de véritables excréctions car elles ont pu être isolées à partir de plantes cultivées en milieu stérile (91, 22). C'est ainsi que les excréctions radicellaires constituées par un liquide de culture hydroponique stérile, incorporé à un sol, induisent, après un certain temps d'incubation, un effet rhizosphère de même nature que celui observé en culture sur la même terre et jusqu'au même stade de croissance de la plante (89). De même, en culture hydroponique ensemencée avec la microflore de la terre à étudier, on constate pour le Lin un effet rhizosphère comparable à celui observé en culture sur terre (19).

On sait que dans la rhizosphère, les Bactéries ayant besoin d'acides aminés sont nettement stimulées. Les acides aminés responsables de cette stimulation peuvent provenir soit des exsudats de plantes, soit de la décomposition des constituants azotés des tissus radicellaires et des cellules microbiennes, soit enfin des excréctions

d'autres micro-organismes telluriques. C'est ainsi que du sable non stérile ou des mélanges de sol + sable, permettant la croissance de la plante, contiennent des acides aminés, notamment : l'acide glutamique, l'acide aspartique, la proline, la leucine, l'alanine, la cystéine, la glycine, la lysine, la phénylalanine. Les plantes cultivées dans des conditions de stérilité absolue libèrent également des acides aminés mais en quantité beaucoup plus faible. Ces composés seront utilisés par les micro-organismes pour satisfaire leurs besoins en acides aminés (63). Des expériences menées simultanément sur des cultures hydroponiques de Maïs avec des graines stérilisées et non stérilisées incitent cependant à penser que l'effet rhizosphère stimulant n'est pas seulement dû aux excréctions radicellaires mais aussi à la synthèse, par les micro-organismes de la graine, de facteurs de croissance nécessaires à certaines catégories de germes telluriques (86).

Vis-à-vis de la microflore fongique, les excréctions radicellaires ont une influence très marquée sur la germination des spores de quelques espèces de Champignons. R. BARTON (8) a montré que si l'on place des oospores de *Pythium mamillatum* dans un sol à proximité de plantules de Navets en croissance, ces oospores germent, alors qu'on n'observe pas de germination dans un sol non rhizosphérique ou dans l'eau distillée. De même la germination dans le sol de *Sclerotium cepivorum* bénéficie de la présence d'Oignons ou d'extraits aqueux d'Oignons qui augmentent la vitesse de germination (31). Les racines libèrent donc des composés hydrosolubles activant la germination des spores fongiques et les excréctions radicellaires déterminent un effet rhizosphère chez des Champignons.

A côté de substances stimulantes, les racines peuvent également excréter ou libérer des produits toxiques ou tout au moins inhibiteurs pour le développement de certains microorganismes. DASTE (33) dénombrant les colonies de *Azotobacter* dans la rhizosphère du Blé à différents stades végétatifs de la plante, observe tout d'abord une stimulation, puis ensuite une diminution progressive du nombre de ces Bactéries; cette observation peut faire penser à une accumulation dans la rhizosphère du Blé d'une substance qui, stimulante à faible dose, deviendrait toxique à partir d'une certaine concentration dans le sol. Des phénomènes analogues d'inhibition exercés par *Ephedra distachya* sur le développement de *Azotobacter* ont été observés par le même auteur. Cette inhibition s'expliquerait par la présence d'alcaloïdes, en particulier d'éphédrine, « abandonnés » dans le sol par décomposition de fragments d'organes morts ou nécrosés (34).

Les micro-organismes sont également affectés par la respiration des racines qui modifie le pH ou la disponibilité de certains aliments

inorganiques par suite de l'apparition de CO_2 . De même la pénétration des racines dans le sol modifie la structure de celui-ci et peut favoriser les oxydations microbiennes.

C) ACTION DES MICRO-ORGANISMES DE LA RHIZOSPHERE SUR LA PLANTE

La population de la rhizosphère peut avoir un effet favorable ou un effet défavorable sur le développement de la plante. Comme la microflore est intimement liée au système radicellaire, toute substance bénéfique ou toxique va provoquer immédiatement une réponse marquée de la plante.

Les micro-organismes utilisant les substances carbonées vont libérer du gaz carbonique dont le taux est toujours plus important au niveau de la rhizosphère que dans les sols témoin. STARKEY (104) a montré que la stimulation du métabolisme des matières organiques dans la zone radicellaire est plus prononcée chez les plantes adultes que chez les jeunes plantes. Des déterminations du dégagement de CO_2 dans un sol stérile et un sol non stérile de rhizosphère montrent que 1/3 à 2/3 du carbone minéralisé sont le résultat de la respiration microbienne. La formation de CO_2 peut déterminer la solubilisation des aliments inorganiques insolubles qui n'étaient pas disponibles pour la plante. Ceci augmente donc le stock de substances minérales assimilables pour la plante. C'est par ce mécanisme que les taux de phosphore, potassium, magnésium et calcium utilisables peuvent être augmentés (47). En même temps qu'il y a dégagement de CO_2 , les Bactéries aérobies vont consommer l'oxygène du milieu environnant et la diminution de la quantité d'oxygène peut également affecter la respiration des racines et donc l'assimilation des ions.

La vaste population microbienne, présente au niveau de la rhizosphère, va par ailleurs demander une variété d'anions et de cations déterminés pour son propre développement et l'immobilisation de l'azote et du phosphore, par exemple, peut devenir extrêmement importante.

D'une manière générale, le taux net d'azote minéralisé est remarquablement plus bas dans les sols cultivés que dans les sols en jachère, mais la minéralisation plus faible peut être le résultat d'une augmentation des réactions d'immobilisation par la population bactérienne associée au système radicellaire (7).

La disponibilité du phosphore est influencée par la population rhizosphérique et puisque les plantes requièrent une quantité appréciable de cette substance, des variations dans les concentrations de

phosphate assimilable sont très importantes. Pour celle-ci il apparaît que la minéralisation du phosphore organique utilisant le glycérophosphate de l'acide nucléique comme substrat, est plus rapide dans la rhizosphère que dans les sols sans racines (78). Le phosphore peut également être transformé par solubilisation des composés contenant du phosphore insoluble. C'est ainsi que des essais de culture de plantes sur milieu stérile et milieu non stérile, renfermant une source de phosphore insoluble, ont mis en évidence le rôle important joué par des micro-organismes de la zone radicellaire qui sont capables de solubiliser le phosphate tricalcique (79). De plus, on est parvenu à mesurer l'activité dissolvante de Bactéries isolées par dosages de phosphore libéré de phosphates naturels (110).

La transformation du fer et du manganèse serait également sous l'influence des micro-organismes. En effet, le métabolisme microbien s'accompagne généralement d'une augmentation de l'acidité et d'une chute du potentiel d'oxydo-réduction entraînant une réduction de sels ferriques en sels ferreux utilisables. Cependant l'accumulation de certains acides organiques, à la suite de la décomposition des hydrates de carbone, peut également modifier les taux de fer soluble par formation d'un chélate avec ce cation. Les acides peuvent aussi rendre le manganèse utilisable dans la nutrition végétale.

La microflore de la rhizosphère joue donc un rôle très important dans le développement de la plante en produisant soit des substances stimulatrices de la croissance, soit des substances nuisibles.

Pour étudier la production des substances de croissance par les Bactéries, il suffit de suivre le développement d'une plante en présence ou en l'absence de Bactéries. Le développement végétal sera beaucoup plus rapide sur un sol stérile ayant reçu un inoculum de micro-organismes que sur un sol stérile non inoculé. En effet les cultures de Bactéries, de Champignons, d'Actinomycètes secrètent des substances favorisant la croissance des plantes. ROBERTS J.-L. et ROBERTS E. (92), étudiant l'effet auxinique de divers groupements morphologiques sur des coléoptiles de *Avena*, ont trouvé, après culture sur milieu gélosé, un résultat positif avec 77 % des Bactéries étudiées, 66 % des différents Actinomycètes et 46 % des Champignons testés. L'une de ces substances de croissance, l'acide indol-acétique, est d'ailleurs synthétisée par de nombreux micro-organismes, plus particulièrement par deux espèces rencontrées couramment dans la rhizosphère : *Pseudomonas* et *Agrobacterium*. Mais la formation d'acide indol-acétique est influencée par la présence du système radicellaire et quelques plantes peuvent même inhiber la synthèse de ce composé (102). Dans les sols, on a pu mettre en évidence les auxines à une concentration assez basse; mais si on favorise le

métabolisme microbien par addition d'amendements organiques, on augmente le taux de ces facteurs de croissance. Il est donc possible que la biosynthèse de l'auxine par les micro-organismes représente un moyen important de la stimulation des plantes.

Les micro-organismes peuvent aussi produire des substances nuisibles au développement végétal. Des Bactéries non pathogènes « abandonnent » des facteurs toxiques, solubles, déterminant, par exemple, des effets préjudiciables chez les plantules de Tabac cultivées en milieu gélosé inoculé (108).

Enfin la micropopulation rhizosphérique, en raison de son importance et de sa diversité, permet des effets compétitifs des micro-organismes entre eux, les uns symbiotiques (34), les autres antagonistes. La production d'antibiotiques, par exemple, est stimulée au niveau de la zone radicellaire et différents types d'antibiotiques sont assimilés par les plantes supérieures par l'intermédiaire des racines, puis transportés dans les parties supérieures. La production d'antibiotiques peut ainsi entraver le développement de germes pathogènes et de maladies dans les parties aériennes de la plante.

En conclusion, on peut dire que les micro-organismes présents au niveau du système radicellaire jouent un rôle très important, assurant notamment et en général le développement d'une plante dans des conditions optima.

II. — RHIZOSPHERE DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

Toutes les recherches effectuées sur la rhizosphère ont démontré que de nombreux facteurs influençaient la flore radicellaire pour une espèce végétale donnée. Les valeurs de l'effet rhizosphère sont fonction, entre autres, de la nature du terrain sur lequel la plante se développe et du stade de croissance de la plante. C'est la raison pour laquelle la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. a été étudiée en fonction de ces deux groupes de facteurs.

A) RHIZOSPHERE DE LA DIGITALE POURPRÉE EN FONCTION DE DIFFÉRENTS TERRAINS

L'étude de la rhizosphère de la digitale pourprée a porté sur des plants prélevés au moment de la floraison, à la fin du mois de juillet.

C'est à ce stade de croissance, en effet, que se fait la récolte des feuilles en vue de l'extraction des hétérosides cardiotoniques. le rendement étant considéré comme maximum (30). Les digitales pourprées ont été prélevées sur les six terrains dont nous avons rapporté, dans le chapitre I, les caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques, à savoir :

- La Croix-de-Fer,
- Le Col de Prayé,
- Les Minières,
- La Crache,
- La Vallée de la Plaine,
- La Vallée du Rabodeau.

Les analyses ont été menées selon le protocole adopté pour nos essais (Preliminaires : p. 22).

a) *Résultats* :

Les résultats des caractères microbiologiques des divers échantillons (rhizosphères éloignée et proche, sol témoin) et de l'effet rhizosphère (effet rhizosphère éloignée et effet rhizosphère proche) de *Digitalis purpurea* L., prélevés sur six sols vosgiens, sont rapportés dans les tableaux V, VI, VII, VIII, IX, X et les figures 3, 4, 5, 6, 7, 8.

Les caractères physico-chimiques des échantillons de rhizosphère éloignée et de sol témoin observés pour les différents prélèvements sont résumés dans le tableau XI.

TABLEAU V

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.
Prélevement : La Croix de Fer

	Microflore totale	Champignons	N												C				S				
			Fixation N						Nitrification						Dénitrification					Cellulolyse			
			Aérobiose		Anaérobiose		Protéolyse		Ammonification		Nitreux		Nitriques		Amylolyse					Aérobiose		Anaérobiose	
JOURS	14	7	C/gr	14	14	5	15	5	15	14	14	14	5	15	15	5	15	14	14	15	Sulfato-réduction		
	G/gr		G/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	DM	DM	In	DM	DM	DM	DM	DM	DM	G/gr	G/gr	G/gr			
Sol témoin	40 400	10 900	0	50	0	0	0	$10^{-5,3}$	$10^{-5,3}$	0	0	$10^{-0,3}$	$10^{-1,3}$	$10^{-0,7}$	0	$10^{-2,3}$	0	250	0	0			
Rhizosphère éloignée	136 500	15 750	0	168	10^{-1}	$10^{-1,8}$	$10^{-6,3}$	$10^{-6,3}$	$10^{-6,3}$	0	0	0	$10^{-1,2}$	$10^{-0,2}$	$10^{-2,3}$	0	472	0	0	0			
Rhizosphère proche	9 570 000	179 700	43	226	$10^{-1,6}$	$10^{-4,6}$	$10^{-6,4}$	10^{-7}	10^{-7}	0	0	0	$10^{-2,2}$	$10^{-0,4}$	$10^{-2,3}$	0	1 440	0	0	0			
	R/S	R/S	R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ In	≠ In	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S	R/S	R/S	R/S			
JOURS	14	7		14	14	5	15	5	15	14	14	14	5	15	15	14	14	14	15	15			
Rhizosphère éloignée	3,3	1,4		0	3,3	1	1,8	1	1	0	0	-0,3	-0,1	0,2	1,6	0	1,8	0	0	0			
Rhizosphère proche	236,8	16,4		43	4,5	1,6	4,6	1,1	1,7	0	0	-0,3	0,9	0,4	1,6	0	5,7	0	0	0			
Caractères microbiologiques																							
Effet rhizosphère																							

TABLEAU VI

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : Col de Prayé

			N										C				S				
			Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amylolyse		Cellulolyse						
			Aérobiose	Anaérobiose	G/gr	DM	5	15	DM	In	14	5	DM	DM	5	15		DM	G/gr	14	15
Microflore totale	Champignons	JOURS	14	7	14	14	5	15	DM	DM	In	In	14	5	DM	DM	DM	G/gr	C. gr		
			4 550	12 520		4	50	10^{-2}	10^{-2}	$10^{-4,5}$	10^{-5}	0	0	10^{-2}	$10^{-1,3}$	$10^{-3,3}$	0	0	8		
Caractères microbiologiques		Rhizosphère éloignée	7 700	12 100	0	77	$10^{-1,1}$	$10^{-1,6}$	$10^{-4,2}$	$10^{-5,5}$	0	0	0	$10^{-1,1}$	$10^{-1,5}$	$10^{-3,3}$	0	3	0		
		Rhizosphère proche	6 050 000	153 670	20	1 020	$10^{-2,4}$	$10^{-5,4}$	10^{-8}	10^{-8}	0	0	0	$10^{-3,4}$	$10^{-1,2}$	$10^{-4,8}$	0	540	0		
			R/S	R/S	R/S	R/S	R/S	Ex	Ex	Ex	Ex	In	In	Ex	Ex	Ex	Ex	R/S	R/S		
		JOURS	14	7	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	14		
		Rhizosphère éloignée	1,5	0,9	0	1,5	-0,9	-0,4	-0,3	0,5	0	0	0	-0,9	0,2	0	0	3	0		
		Rhizosphère proche	1 330	12,2	5	20	0,4	3,4	3,5	3	0	0	0	1,4	-0,1	1,2	0	4,1	0		

TABLEAU VIII

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Freilèvement : la Crache

		Microflore totale	Champignons	N										C				S		
				Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amylolyse		Cellulolyse				
				Aérobiose		Anaérobiose				Nitreux		Nitriques				Aérobiose			Anaérobiose	
				14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14		14	15
Caractères microbiologiques	JOURS	14	7	G/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	DM	G/gr	G/gr			
	Sol témoin	206 500	58 530	60	260	10 ^{-0,6}	10 ^{-1,5}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,9}	10 ^{-0,2}	10 ^{-2,4}	10 ⁻²	10 ^{-3,3}	0	112			
	Rhizosphère éloignée	39 200	19 780	60	3 800	10 ^{-1,1}	10 ^{-2,2}	10 ^{-4,5}	10 ^{-4,8}	10 ^{-4,5}	10 ^{-4,8}	0	0	10 ^{-1,7}	10 ^{-3,7}	0	1 064			
	Rhizosphère proche	6 790 000	117 000	155	2 520	10 ^{-2,7}	10 ^{-5,3}	10 ^{-6,8}	10 ^{-6,8}	10 ^{-6,8}	10 ^{-6,8}	0	0	10 ^{-2,4}	10 ^{-3,9}	0	24 250			
Effet rhizosphère	JOURS	R/S	R/S	R/S	R/S	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	f Ex	R/S	R/S			
	7	14	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	14			
	Rhizosphère éloignée	0,18	0,33	1	14,6	0,5	0,7	-1,4	-1,1	0	0	-0,2	-0,4	-0,3	0,4	0	9,0			
	Rhizosphère proche	32,8	2	2,5	9,6	2,1	3,8	0,9	0,9	0	0	0,1	0,5	0,4	0,6	0	1 347,2			

TABLEAU IX

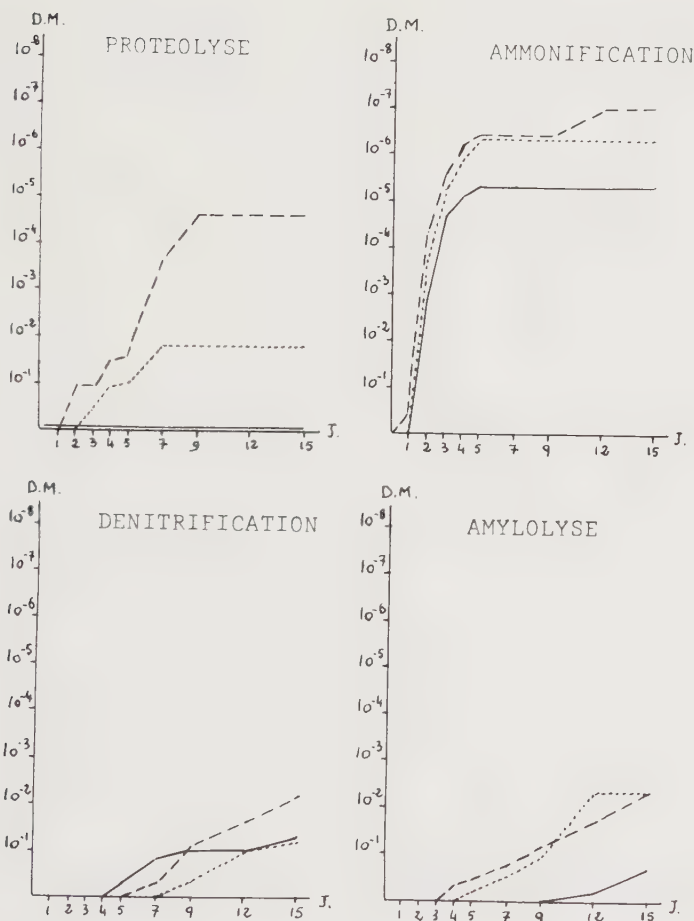
Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : Vallée de la Plaine

	Microflore totale	Champignons	N						C			S				
			Fixation N		Protéolyse	Ammonification	Nitrification		Dénitrification	Amylolyse	Cellulolyse					
			Aérobiose	Anaérobiose			Nitreux	Nitriques			R/S		R/S			
														R/S	R/S	R/S
JOURS	14	7	14	5	15	5	15	5	15	14	14	15	Sulfato-réduction			
	G/gr	C/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	DM	DM	G/gr	G/gr	G/gr				
Sol témoin	1 802 060	70 800	4	1 030	$10^{-2,3}$	$10^{-3,3}$	$10^{-5,5}$	$10^{-0,9}$	$10^{-2,1}$	$10^{-2,1}$	9	260	51			
Rhizosphère éloignée	176 800	23 500	4	270	0	$10^{-1,6}$	$10^{-4,8}$	0	0	$10^{-2,6}$	$10^{-1,9}$	2	260	52		
Rhizosphère proche	8 000 000	297 330	70	3 400	$10^{-3,1}$	10^{-4}	10^{-7}	$10^{-7,3}$	0	0	$10^{-3,2}$	$10^{-1,3}$	150	4 500	190	
	R/S	R/S	R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S	R/S	R/S	R/S		
JOURS	14	7	14	5	15	5	15	5	15	14	14	14	15			
Rhizosphère éloignée	0,09	0,3	1	0,2	-2,3	-1,7	-0,7	-1	0	-0,9	0,5	-0,5	-0,2	0,2	1	1
Rhizosphère proche	4,4	4,1	17,5	3,3	0,8	0,7	1,5	1,5	0	-0,9	1	-0,1	-0,1	16,6	17,3	3,7
Caractères microbiologiques																
Effet rhizosphère																

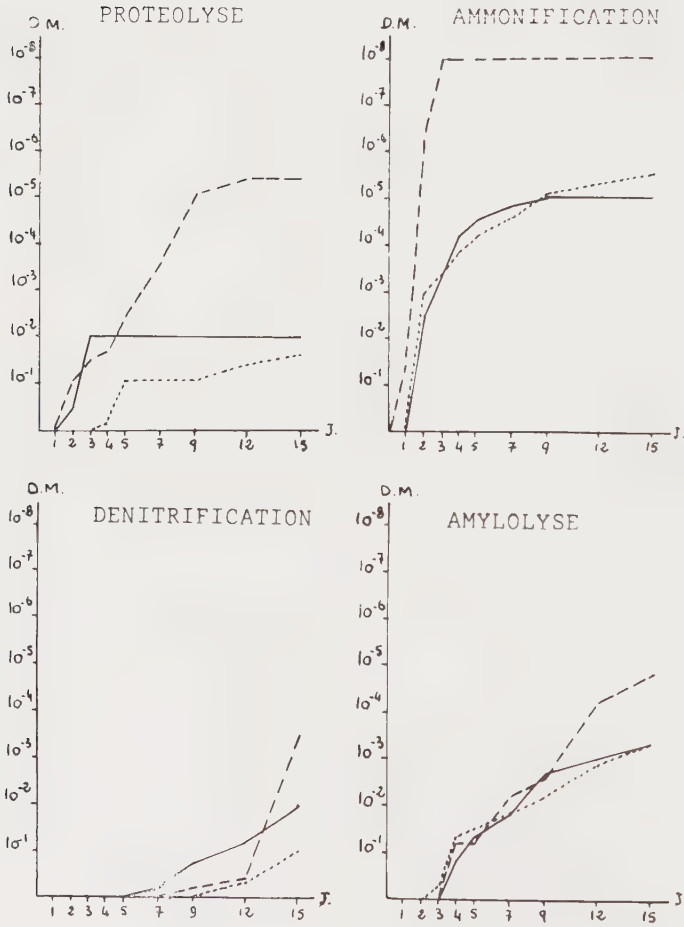
Fig. 3. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : La Croix-de-Fer.



— Sol témoin
 Rhizosphère éloignée
 ---- Rhizosphère proche

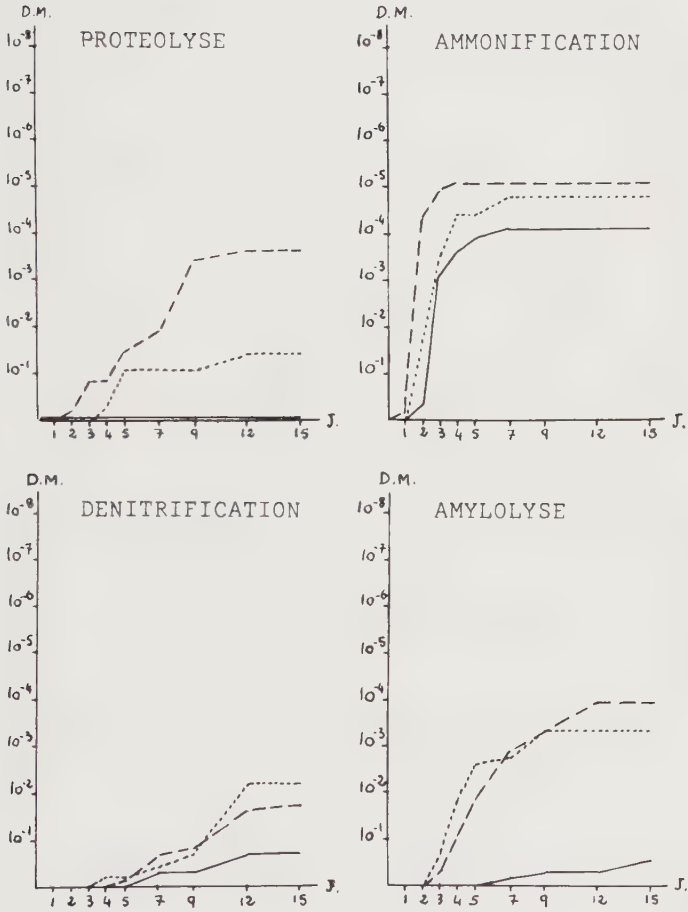
Fig. 4. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.
Prélèvement : Le Col de Prayé.



—— Sol témoin
..... Rhizosphère éloignée
---- Rhizosphère proche

Fig. 5. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : Les Minières.



—— Sol témoin
..... Rhizosphère éloignée
---- Rhizosphère proche

Fig. 6. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : La Crache

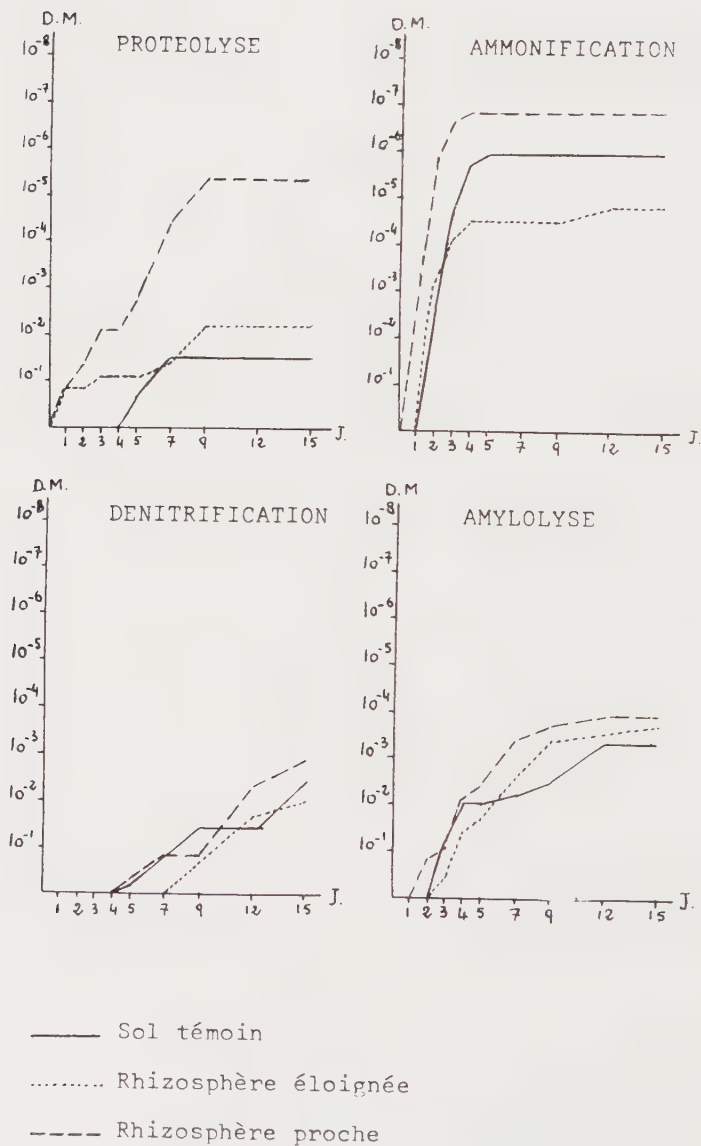


Fig. 7. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : Vallée de la Plaine.

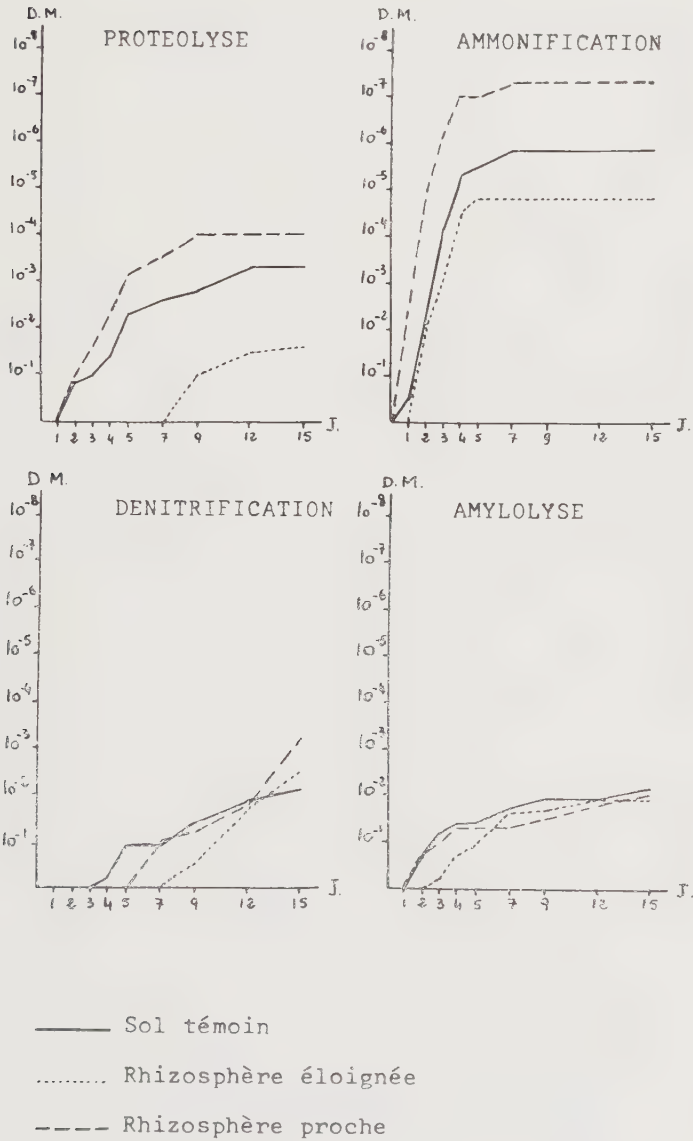
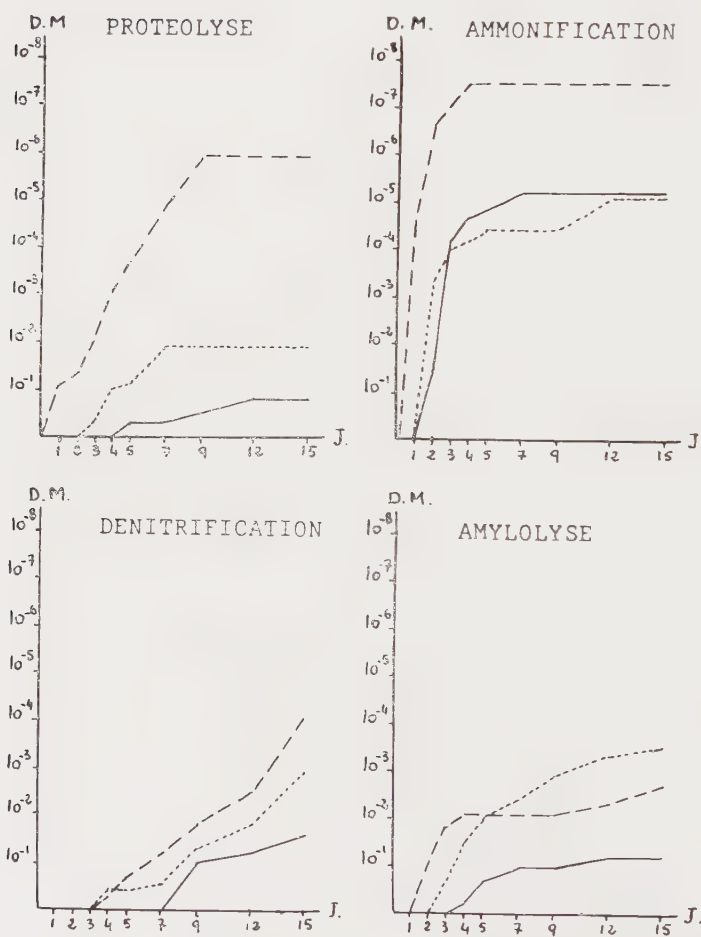


Fig. 8. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.

Prélèvement : Vallée du Rabodeau.



— Sol témoin
 Rhizosphère éloignée
 --- Rhizosphère proche

TABLEAU XI

Effet rhizosphère de Digitalis purpurea L.
en fonction des différents terrains
(caractères physico-chimiques)

		pH	Carbone gr %	Azote gr %	C/N	Humus gr %
La Croix de Fer	Sol témoin	4,85	0,114	0,038	3	0,032
	Rhizosphère éloignée	5,1	0,384	0,078	4,9	0,061
Col du Prayé	Sol témoin	4,6	0,519	0,070	7,41	0,105
	Rhizosphère éloignée	4,75	1,121	0,158	7,09	0,377
Les Minières	Sol témoin	4,9	0,279	0,045	6,2	0,030
	Rhizosphère éloignée	4,85	1,34	0,136	9,9	0,395
La Crache	Sol témoin	4,3	1,425	0,252	5,65	0,346
	Rhizosphère éloignée	4,9	1,4	0,192	7,31	0,372
Vallée de la Plaine	Sol témoin	4,6	1,086	0,248	4,37	0,367
	Rhizosphère éloignée	4,55	0,927	0,175	5,29	0,387
Vallée du Rabodeau	Sol témoin	4,55	0,426	0,063	6,68	0,127
	Rhizosphère éloignée	4,55	1,038	0,168	6,17	0,499

b) *Discussion* :

1° L'examen des observations relatives aux caractères microbiologiques et aux effets rhizosphère des digitales pourprées prélevées sur six sols vosgiens différents permet les diverses constatations suivantes :

- a) l'effet rhizosphère proche existe toujours quels que soient les lieux de prélèvement de la digitale et les groupements morphologiques ou fonctionnels envisagés. Par contre, l'effet rhizosphère éloignée est beaucoup plus faible et il est même parfois négatif ($R/S < 1$) quand l'effet rhizosphère proche est peu marqué.
- b) en considérant seulement la micropopulation tellurique, l'effet rhizosphère est toujours plus grand pour la microflore bactérienne que pour les Champignons.

Conformément à ce qu'avaient déjà signalé certains auteurs (83, 78), on constate que le rapport R/S atteint des valeurs de plus en plus grandes au fur et à mesure que la richesse en germes du sol témoin diminue. C'est ainsi que pour la digitale de la Vallée du Rabodeau, le rapport R/S est très élevé ($R/S = 10.288$, le sol témoin renfermant seulement 8.320 germes par gramme de terre). Au contraire, pour la digitale de la Vallée de la Plaine, ce rapport R/S est très faible ($R/S = 4,4$, mais le sol témoin renferme 1.802.000 germes par gramme de terre). Cette observation se vérifie également pour la digitale pourprée prélevée à la Crache où la micropopulation du sol est nettement plus importante que celle des autres terrains du massif du Donon mais où la stimulation rhizosphérique est 10 à 40 fois moindre que pour les autres prélèvements. Il en est de même de l'effet rhizosphère sur la population fongique. Plus le sol témoin est pauvre en Champignons, plus la stimulation vis-à-vis de ce groupe est marquée.

- c) en ce qui concerne les résultats de l'effet rhizosphère sur les divers groupements fonctionnels, on peut tirer les conclusions suivantes :
 - la valeur du rapport R/S est d'autant plus grande que la richesse du sol témoin en germes du groupement fonctionnel envisagé est faible.
 - dans toutes les rhizosphères proches, on a pu mettre en évidence, parfois en très faible quantité il est vrai, la présence de germes responsables de la fixation d'azote en aérobiose, même si les sols témoin en étaient dépourvus. Vis-à-vis des germes fixateurs d'azote en anaérobiose, les rapports R/S sont variables mais en relation avec le nombre de *Clostridium* dans le sol témoin.

- les germes responsables de la nitrification sont absents dans tous les sols témoin. Cette absence se manifeste également dans tous les échantillons de rhizosphère proche, sauf celui de la Vallée du Rabodeau.
- dans le cycle du carbone, les germes cellulolytiques aérobies sont absents dans tous les échantillons de digitales prélevés dans le massif du Donon et ceci tant dans le sol témoin que dans la rhizosphère. Ils sont, par contre, présents dans la zone rhizosphérique proche des digitales des Vallées de la Plaine et du Rabodeau (bien qu'étant absents dans ce dernier sol témoin). En ce qui concerne les germes responsables de la cellulolyse en anaérobiose, l'effet rhizosphérique suit la règle générale.
- dans le cycle du soufre, le rapport R/S est faible ou nul.
- quant aux activités fonctionnelles étudiées selon une technique dynamique, l'effet rhizosphère observé à quinze jours pour les fonctions étudiées (protéolyse, ammonification, dénitrification et amylolyse) est le plus important pour la digitale pourprée récoltée dans la Vallée du Rabodeau et le plus faible pour celle récoltée dans la Vallée de la Plaine. En ce qui concerne les quatre autres prélèvements, l'effet sur la protéolyse est très marqué; par contre, la dénitrification est peu affectée. Dans l'étude de l'ammonification, on a des résultats variables : l'effet rhizosphère est faiblement stimulant pour les échantillons des Minières, de la Crache, de la Croix-de-Fer. Quant à l'amylolyse, les résultats sont inversés.

2° L'examen du tableau XI résumant les caractères physico-chimiques des échantillons de sol témoin et de rhizosphère éloignée des six prélèvements de digitales pourprées fait ressortir les points suivants :

- les pH relevés pour le sol témoin et la rhizosphère éloignée sont très voisins pour un même lieu de récolte. Pour tous les prélèvements les pH sont caractéristiques des sols acides.
- les rapports C/N sont également très voisins.
- pour les taux de carbone, d'azote et d'humus, on peut diviser les prélèvements de digitales en deux groupes : le premier groupe comprend les digitales de la Croix-de-Fer, du Col de Prayé, des Minières et de la Vallée du Rabodeau, pour lesquelles l'effet rhizosphère est marqué, se manifestant par une nette augmentation du taux de ces constituants. Le deuxième groupe comprend les digitales de la Crache et de la Vallée de la Plaine, pour lesquelles les taux obtenus avec l'échantillon de la rhizosphère sont égaux ou un peu inférieurs à ceux obtenus avec le sol témoin, ce qui correspond à un effet rhizosphère nul.

B) RHIZOSPHERE DE LA DIGITALE POURPRÉE EN FONCTION DES VARIATIONS SAISONNIÈRES ET DU STADE DE CROISSANCE DE LA PLANTE.

L'étude de l'influence du développement de la digitale sur la microflore de la rhizosphère, a été faite avec des prélèvements effectués au cours des quatre saisons de l'année et sur des plants à des stades différents de croissance puisque nous avons affaire à une plante bisannuelle. Pratiquement, notre étude a porté, pour un type de terrain donné, sur sept prélèvements différents, car nous avons étudié l'effet rhizosphère de digitales pourprées de première et de deuxième années, et ceci pour les diverses saisons, sauf l'hiver dans le cas de la deuxième année, la plante étant morte à ce moment. La plante de deuxième année, récoltée en été, était une digitale en fleur et celle récoltée à l'automne une digitale dont les fruits laissent échapper les graines.

Pour l'étude de l'influence des saisons et du stade de croissance, nous avons choisi deux lieux de prélèvement, à savoir la Vallée de la Plaine et la Vallée du Rabodeau. Ce choix a été guidé par les diverses constatations suivantes :

1° La récolte des feuilles de digitale pourprée, en vue de l'exploitation pharmaceutique, est faite d'une façon systématique dans la Vallée de la Plaine où cette espèce est assez abondante. Ceci n'est pas le cas dans la Vallée du Rabodeau, dans le bois de Ménil, où nous avons effectué les prélèvements, les plants étant très épars.

2° Dans la Vallée de la Plaine, *Digitalis purpurea* L. croît dans un endroit très ensoleillé alors que, dans le deuxième cas elle végète en bordure d'une route forestière.

3° L'effet rhizosphère étudié au moment de la floraison de la digitale pourprée a donné, ainsi que nous l'avons rapporté dans les paragraphes précédents, des résultats nettement différents pour ces deux lieux de prélèvement.

Nous tenons à signaler que tous nos essais d'effet rhizosphère des digitales pourprées de la Vallée de la Plaine et de la Vallée du Rabodeau ont été réalisés simultanément aux diverses périodes de l'année et en fonction du stade de développement de cette plante, de façon à obtenir des résultats tout à fait comparables. Les caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques ont été déterminées selon les techniques habituelles, exposées précédemment.

a) *Résultats :*

Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés comme suit :

- 1° Les effets rhizosphère, exprimés par le rapport R/S, font l'objet d'un tableau particulier pour chaque groupement morphologique (microflore bactérienne et fongique) ou fonctionnel envisagé (fixation de l'azote en aérobiose et anaérobiose, cellulolyse en aérobiose et en anaérobiose, sulfato-réduction). Les résultats obtenus, tenant compte du lieu de prélèvement, des saisons et du stade de développement de la digitale sont ainsi rapportés dans les tableaux XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII.
- 2° Pour les quatre groupements fonctionnels dont l'étude est dynamique (protéolyse, ammonification, dénitrification, amylolyse) les résultats de l'effet rhizosphère font l'objet d'un tableau et d'une représentation graphique pour chaque lieu de prélèvement de la digitale pourprée (tableau XIX et figure 9 pour les prélèvements de la Vallée de la Plaine; tableau XX et figure 10 pour ceux de la Vallée du Rabodeau); chacun de ces tableaux et chacune des figures tiennent compte de l'influence des saisons et du stade de croissance de la plante.
- 3° Les résultats de l'effet rhizosphère vis-à-vis des germes de la nitrification n'ont pas été rapportés dans un tableau car leur présence n'a été constatée que dans la rhizosphère proche d'un seul prélèvement.
- 4° En ce qui concerne les caractères physico-chimiques, les résultats obtenus pour les divers prélèvements de digitales pourprées effectués aux quatre saisons et aux différents stades de développement de la plante, dans les Vallées de la Plaine et du Rabodeau, sont groupés dans le tableau XXI.

TABLEAU XIII
Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.
sur l'effet rhizosphérique
CHAMPIGNONS

TABLEAU XVII

Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de Digitalis purpurea L.
sur l'effet rhizosphère

CELLULOLOSE EN ANAEROBIOSE

		1 ^{re} Année						2 ^{ème} Année					
		Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté	
		G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S
Vallée de la Plaine	Témoin	10		260		10		30		10		260	10
	Rhizosphère éloignée	4	0,4	98	0,37	100	10	115	3,8	30	3	260	1 48
	Rhizosphère proche	99 700	9 970	2 100	8	1 080	108	29 700	990	92 100	9 210	4 500	53 500
													5 350
Vallée du Rebouteau	Témoin	5		15		27		25		5		15	27
	Rhizosphère éloignée	50	10	28	1,8	47	1,8	780	31,2	0		220	120
	Rhizosphère proche	25	5	215	14,3	425	15,7	560	22,4	18 750	3 750	101 600	44,4

TABLEAU XIX

Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de Digitalis purpurea L., prélevée dans la
Vallée de la Plaine, sur l'effet rhizosphère .
PROTEOLYSE . AMMONIFICATION . DENITRIFICATION , AMYLOLYSE

		Première Année								Deuxième Année					
		Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne	
JOURS		5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15
D.M.	T.	10 ^{-1,2}	10 ^{-2,1}	10 ^{-2,3}	10 ^{-3,3}	10 ^{-0,8}	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,2}	10 ^{-2,1}	10 ^{-2,1}	10 ^{-2,1}	10 ^{-2,3}	10 ^{-3,3}	10 ^{-0,8}	10 ^{-2,1}
	R.E.	10 ^{-1,6}	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,2}	10 ^{-2,9}	10 ^{-1,5}	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,8}	10 ^{-0,6}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-1,6}	10 ^{-1,3}	10 ^{-2,7}
	R.P.	10 ^{-4,9}	10 ⁻⁶	10 ^{-4,7}	10 ^{-4,9}	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ^{-3,9}	10 ⁻⁶	10 ^{-4,6}	10 ^{-5,3}	10 ^{-3,1}	10 ⁻⁴	10 ^{-3,9}	10 ^{-6,5}
/ Ex	R.E.	0,4	0	-1,1	-0,4	0,7	0	0	-0,3	-0,6	-0,9	-2,3	-1,7	0,5	0,6
	R.P.	3,7	3,9	2,4	1,6	3,2	3,9	2,7	3,9	3,4	3,2	0,8	0,7	3,1	4,4
D.M.	T.	10 ⁻⁴	10 ^{-4,8}	10 ^{-5,5}	10 ^{-5,8}	10 ^{-4,1}	10 ^{-5,5}	10 ^{-4,3}	10 ^{-5,9}	10 ⁻⁴	10 ^{-4,8}	10 ^{-5,5}	10 ^{-5,8}	10 ^{-4,1}	10 ^{-5,5}
	R.E.	10 ^{-3,6}	10 ⁻⁵	10 ^{-3,8}	10 ^{-5,4}	10 ^{-5,1}	10 ^{-6,4}	10 ^{-4,5}	10 ^{-5,3}	10 ⁻⁴	10 ^{-5,2}	10 ^{-4,8}	10 ^{-4,8}	10 ⁻⁵	10 ^{-5,5}
	R.P.	10 ^{-7,3}	10 ⁻⁸	10 ⁻⁶	10 ^{-6,8}	10 ^{-6,8}	10 ^{-9,1}	10 ^{-9,5}	10 ^{-9,5}	10 ^{-7,1}	10 ^{-8,1}	10 ⁻⁷	10 ^{-7,3}	10 ^{-9,9}	10 ^{-10,1}
/ Ex	R.E.	-0,4	0,2	-1,7	-0,4	1	0,9	0,2	-0,6	0	0,4	-0,7	-1	0,9	0
	R.P.	3,3	3,2	0,5	1	2,7	3,6	5,2	3,6	3,1	3,3	1,5	1,5	5,8	4,6
D.M.	T.	10 ^{-0,4}	10 ^{-2,8}	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,1}	0	10 ^{-1,4}	0	10 ^{-2,7}	10 ^{-0,4}	10 ^{-2,8}	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,1}	0	10 ^{-1,4}
	R.E.	0	10 ^{-1,4}	10 ^{-0,3}	10 ^{-2,6}	10 ^{-0,2}	10 ^{-2,1}	0	10 ^{-4,7}	0	10 ⁻²	0	10 ^{-2,6}	0	10 ^{-1,8}
	R.P.	0	10 ^{-2,6}	0	10 ^{-2,1}	10 ^{-0,2}	10 ^{-3,8}	0	10 ^{-3,2}	0	10 ^{-3,1}	0	10 ^{-3,2}	10 ^{-0,2}	10 ^{-3,4}
/ Ex	R.E.	-0,4	-1,4	-0,6	0,5	0,2	0,7	0	2	-0,4	-0,8	-0,9	0,5	0	0,4
	R.P.	-0,4	-0,2	-0,9	0	0,2	2,4	0	0,5	-0,4	0,3	-0,9	1,1	0,2	2
D.M.	T.	10 ⁻¹	10 ^{-3,2}	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,1}	10 ⁻¹	10 ^{-2,2}	10 ^{-0,8}	10 ^{-3,9}	10 ⁻¹	10 ^{-3,2}	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,1}	10 ⁻¹	10 ^{-2,2}
	R.E.	10 ^{-0,2}	10 ^{-3,6}	10 ^{-1,7}	10 ^{-2,5}	10 ^{-1,6}	10 ^{-3,1}	10 ^{-0,4}	10 ^{-3,3}	0	10 ^{-2,2}	10 ^{-0,9}	10 ^{-1,9}	10 ^{-1,2}	10 ^{-2,7}
	R.P.	10 ^{-1,2}	10 ^{-2,3}	10 ^{-1,3}	10 ^{-2,3}	10 ^{-1,5}	10 ^{-4,6}	10 ^{-1,6}	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ^{-1,6}	10 ^{-1,3}	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ^{-4,8}
/ Ex	R.E.	-0,8	0,4	0,3	0,7	0,6	1,7	-0,4	-0,6	-1	-1	-0,5	-0,2	0,2	0,5
	R.P.	0,2	-0,9	-0,1	0,2	0,5	2,4	0,8	-0,9	0	-1,6	-0,1	-0,1	1	2,6

Fig: 9 Représentation graphique des valeurs du tableau XIX

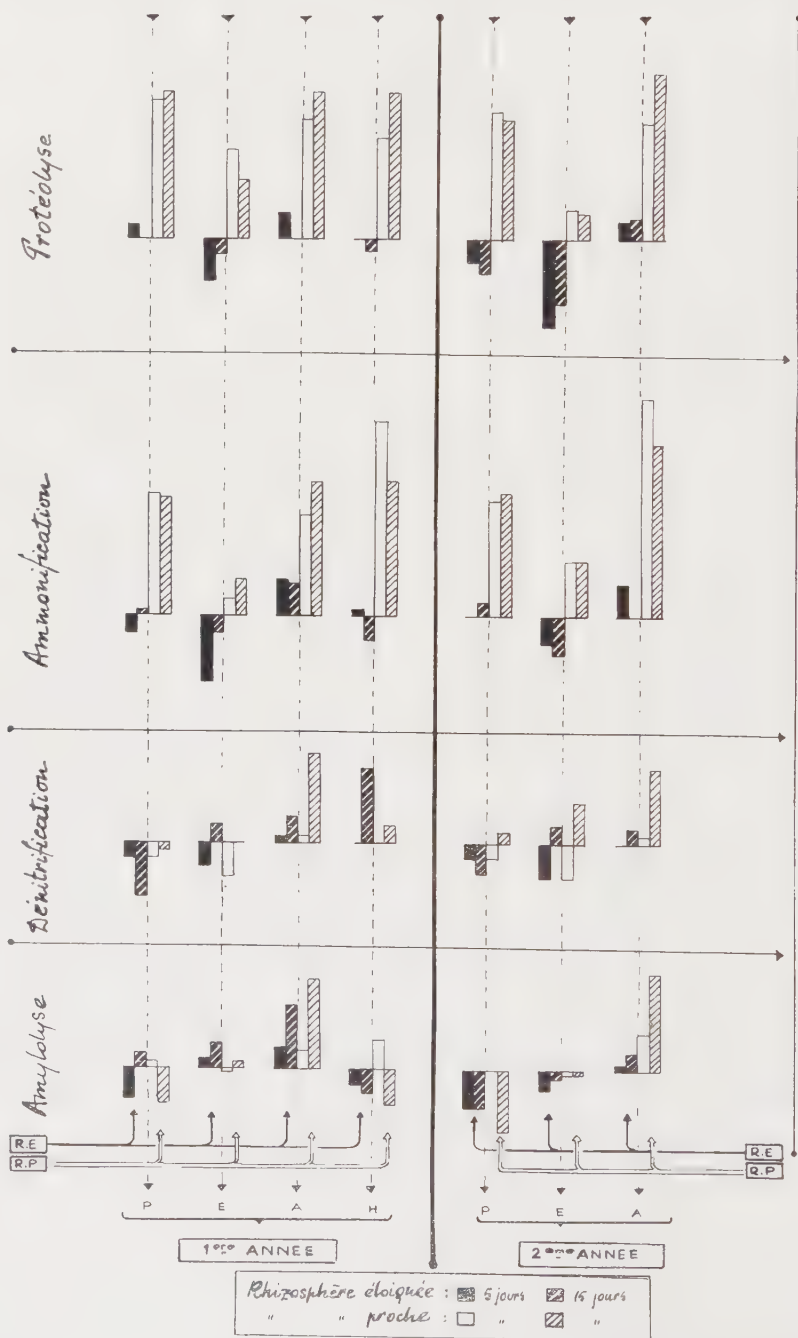


TABLEAU XX

Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de Digitalis purpurea L.,
prélevée dans la Vallée du Rabodeau, sur l'effet rhizosphère

PROTEOLYSE, AMMONIFICATION, DENITRIFICATION, AMYLOLYSE

			Première Année								Deuxième Année					
			Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne	
JOURS			5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15
PROTEOLYSE	D.M.	T.	0	10 ^{-1,7}	10 ^{-0,3}	10 ^{-0,8}	10 ^{-0,5}	10 ^{-1,1}	10 ^{-0,6}	10 ^{-0,8}	0	10 ^{-1,7}	10 ^{-0,3}	10 ^{-0,8}	10 ^{-0,5}	10 ^{-1,1}
		R.E.	10 ⁻¹	10 ^{-1,9}	10 ^{-1,7}	10 ^{-2,2}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,6}	10 ^{-0,5}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,6}	10 ^{-2,5}	10 ^{-1,1}	10 ^{-1,9}	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,8}
		R.P.	10 ^{-3,1}	10 ^{-5,5}	10 ^{-2,7}	10 ^{-6,4}	10 ^{-2,9}	10 ^{-4,5}	10 ^{-1,7}	10 ^{-3,7}	10 ^{-3,4}	10 ⁻⁵	10 ^{-3,7}	10 ^{-5,9}	10 ^{-2,9}	10 ^{-4,7}
	f Ex	R.E.	1	0,2	1,4	1,4	0,7	0,5	-0,1	0,4	1,6	0,8	0,8	1,1	0,4	1,7
		R.P.	3 1	3,8	2,4	5,6	2,4	3,4	1,1	2,9	3,4	3,3	3,4	5,1	2,4	3,6
AMMONIFICATION	D.M.	T.	10 ^{-3,4}	10 ^{-3,7}	10 ^{-4,8}	10 ^{-5,2}	10 ^{-5,6}	10 ^{-5,6}	10 ^{-3,7}	10 ^{-5,1}	10 ^{-3,4}	10 ^{-3,7}	10 ^{-4,8}	10 ^{-5,2}	10 ^{-5,6}	10 ^{-5,6}
		R.E.	10 ^{-4,4}	10 ^{-5,9}	10 ^{-5,2}	10 ^{-6,6}	10 ^{-4,8}	10 ^{-6,2}	10 ^{-4,2}	10 ^{-4,8}	10 ⁻⁴	10 ^{-5,1}	10 ^{-4,4}	10 ^{-5,1}	10 ^{-5,9}	10 ⁻⁸
		R.P.	10 ⁻⁶	10 ^{-6,7}	10 ⁻⁹	10 ^{-9,5}	10 ⁻⁶	10 ^{-6,4}	10 ^{-7,5}	10 ^{-9,1}	10 ^{-6,6}	10 ^{-7,2}	10 ^{-7,5}	10 ^{-7,5}	10 ^{-6,3}	10 ^{-6,3}
	f Ex	R.E.	1	2,2	0,4	0,1	-0,8	0,6	0,5	-0,3	0,6	1,4	-0,4	-0,1	0,3	2,4
		R.P.	2,6	3	4,2	4,3	0,4	0,8	3,8	4	3,2	3,5	2,7	2,3	0,7	0,7
DENITRIFICATION	D.M.	T.	0	10 ^{-1,9}	0	10 ^{-1,6}	0	10 ^{-1,9}	10 ^{-1,8}	10 ^{-2,9}	0	10 ^{-1,9}	0	10 ^{-1,6}	0	10 ^{-1,9}
		R.E.	0	10 ^{-2,6}	0	10 ^{-1,7}	0	10 ^{-2,6}	10 ^{-1,6}	10 ^{-3,1}	0	10 ^{-2,5}	10 ^{-0,4}	10 ^{-2,9}	10 ^{-0,2}	10 ^{-2,1}
		R.P.	0	10 ^{-2,2}	0	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-2,2}	10 ^{-1,7}	10 ^{-4,2}	0	10 ^{-2,4}	10 ^{-0,7}	10 ^{-4,1}	10 ^{-0,1}	10 ^{-3,9}
	f Ex	R.E.	0	0,7	0	0,1	0	0,7	-0,2	-0,2	0	0,5	0,4	1,3	0,2	0,2
		R.P.	0	0,3	0	-0,4	0	0,3	-0,1	1,3	0	0,5	0,7	2,5	0,1	2
AMYLULOYSE	D.M.	T.	0	10 ^{-2,2}	10 ^{-0,7}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,1}	10 ^{-3,5}	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,2}	0	10 ^{-2,2}	10 ^{-0,7}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,1}	10 ^{-3,5}
		R.E.	10 ^{-1,1}	10 ⁻³	10 ^{-2,2}	10 ^{-3,5}	10 ⁻¹	10 ^{-2,4}	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,4}	10 ^{-0,2}	10 ^{-1,8}	10 ⁻²	10 ^{-3,5}	10 ^{-0,9}	10 ⁻⁴
		R.P.	10 ⁻¹	10 ^{-1,5}	10 ^{-1,4}	10 ⁻⁵	10 ^{-0,9}	10 ^{-1,2}	10 ^{-1,9}	10 ^{-3,3}	10 ^{-1,3}	10 ^{-1,5}	10 ^{-2,1}	10 ^{-2,7}	10 ^{-0,9}	10 ^{-3,6}
	f Ex	R.E.	1,1	0,8	1,5	2,3	-0,1	-0,9	0	0,2	0,2	-0,4	1,3	2,3	-0,2	0,5
		R.P.	1	-0,7	0,7	3,8	-0,2	-2,3	1	1,1	1,3	-0,7	1,4	1,5	-0,2	0,1

Fig. 10 Représentation graphique des valeurs du tableau XX

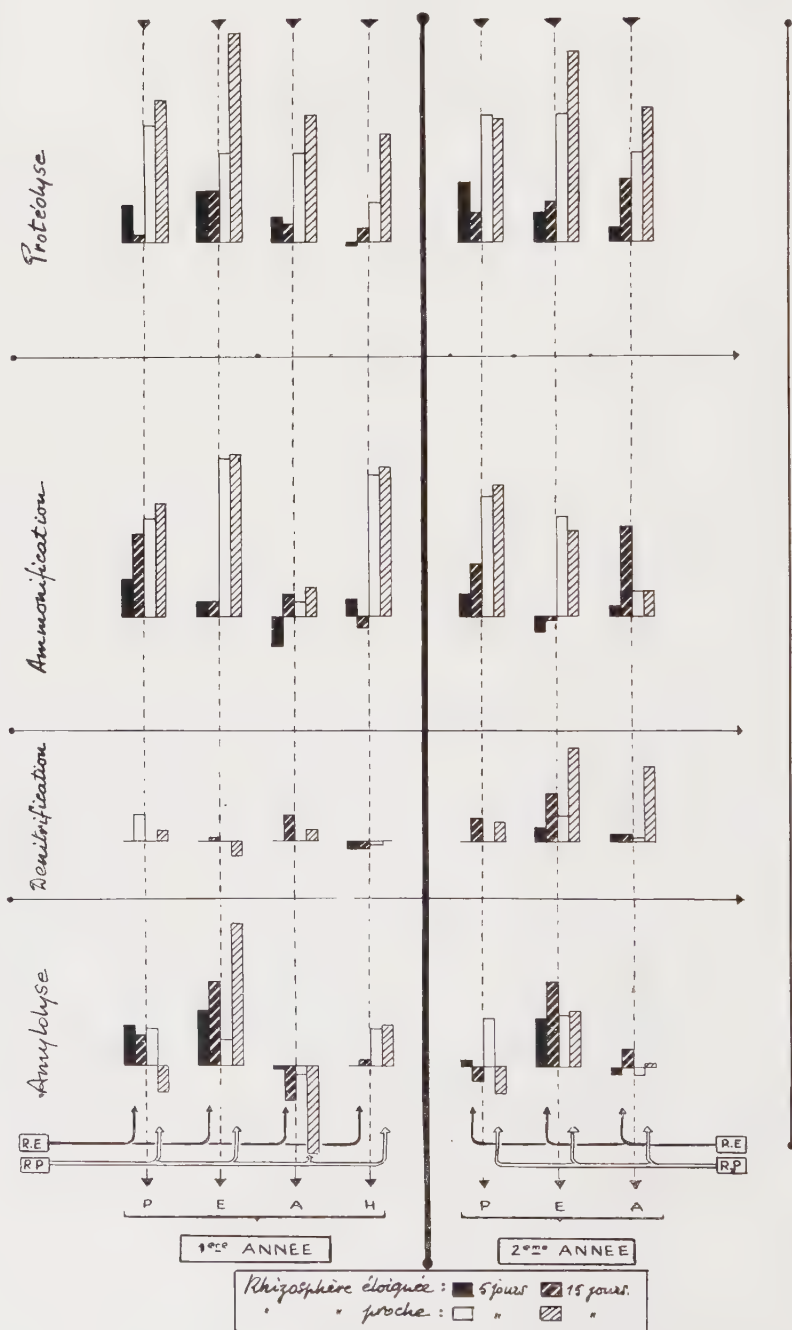


TABLEAU XXI

Influence des variations saisonnière et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.,
sur l'effet rhizosphère

CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

		1 ^{re} Année						2 ^{ème} Année							
		Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne	
		T.	R.E.	T.	R.E.	T.	R.E.	T.	R.E.	T.	R.E.	T.	R.E.	T.	R.E.
Vallée de la Plaine	pH	4,5	5,2	4,6	4,6	4,65	4,85	4,1	4,1	4,5	4,8	4,6	4,55	4,65	4,1
	Carbone gr %	1,13	1,23	1,086	0,933	0,591	1,78	1,10	1,413	1,13	1,10	1,086	0,927	0,591	1,51
	Azote gr %	0,133	0,145	0,248	0,241	0,109	0,240	0,126	0,212	0,133	0,141	0,248	0,175	0,109	0,273
	C/N	8,54	8,48	4,37	3,87	5,42	7,41	8,73	6,66	8,54	7,8	4,37	5,29	5,42	5,53
	Humus gr %	0,448	0,303	0,367	0,530	0,272	0,510	0,403	0,489	0,448	0,367	0,367	0,387	0,272	0,576
Vallée du Rabodeau	pH	5	4,6	4,55	4,3	4,85	4,85	4,42	4,6	5	4,5	4,55	4,55	4,85	4,1
	Carbone gr %	0,693	1,107	0,426	0,624	0,483	0,822	1,09	0,88	0,693	0,585	0,426	1,038	0,483	0,867
	Azote gr %	0,064	0,137	0,063	0,091	0,073	0,108	0,084	0,069	0,064	0,072	0,063	0,168	0,073	0,099
	C/N	10,82	8,08	6,63	6,85	6,62	7,61	13	12,75	10,82	8,12	6,68	6,17	6,62	8,75
	Humus gr %	0,160	0,377	0,127	0,232	0,247	0,336	0,408	0,212	0,160	0,229	0,127	0,499	0,247	0,408

b) *Discussion* :

1° Effet rhizosphère vis-à-vis des micro-organismes telluriques en fonction des saisons et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.

- 1) De l'ensemble des résultats obtenus avec les digitales prélevées dans deux lieux différents, il ressort que les valeurs fournies par l'un et l'autre prélèvement aux mêmes saisons et au même stade de croissance de la digitale sont très différentes. On constate que les rapports R/S sont toujours beaucoup plus élevés pour l'échantillon de la Vallée du Rabodeau que pour celui de la Vallée de la Plaine.
- 2) En examinant les résultats exprimés par le rapport R/S, obtenus avec chacun des groupements microbiens et en tenant compte des variations saisonnières et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L. prélevée dans la Vallée de la Plaine et la Vallée du Rabodeau, on peut noter les résultats suivants :

Prélèvement de la Vallée de la Plaine :

- Vis-à-vis de la microflore bactérienne, l'effet rhizosphère éloignée est faiblement stimulant ou inhibiteur, le maximum de stimulation étant obtenu à la période de la fructification. Dans la rhizosphère proche, l'effet est maximum au printemps de la première année de développement et minimum à la période de la floraison, un minimum un peu moins marqué se retrouvant en été de l'année de non-floraison.
- Vis-à-vis de la microflore fongique, les effets rhizosphériques sont beaucoup moins appréciables. Au moment de la floraison de la digitale, l'effet rhizosphère éloignée est inhibiteur et l'effet rhizosphère proche est minimum, les effets maximum étant atteints en automne et en hiver.
- Les germes responsables de la fixation en aérobiose de l'azote atmosphérique sont très peu nombreux ou même absents (échantillon de printemps) dans le sol témoin; l'effet rhizosphère est faible aussi bien dans la zone éloignée que dans la zone proche, le rapport R/S le plus élevé pour cette zone proche étant obtenu au moment de la fructification. Vis-à-vis de *Clostridium*, le maximum d'inhibition pour la rhizosphère éloignée et le minimum de stimulation pour la rhizosphère proche sont notés à la floraison, l'écart le plus grand étant enregistré au printemps de la deuxième année de croissance.

- Si nous considérons les germes de la nitrification, leur absence a été constatée aussi bien dans les échantillons de sol témoin que de rhizosphère.
- Dans le cycle du carbone, les germes responsables de la cellulolyse en aérobiose sont absents dans le sol témoin et la rhizosphère éloignée, sauf en été où ils sont peu abondants et le rapport R/S est inférieur à 1. En ce qui concerne les germes impliqués dans la cellulolyse en anaérobiose, on constate dans la rhizosphère éloignée un effet faible ou nul et dans la rhizosphère proche un effet minimum en été des deux années de végétation, le rapport R/S étant maximum à chaque printemps.
- Dans le cycle du soufre, le nombre des germes sulfato-réducteurs est très faible dans tous les échantillons et l'activation est peu significative mais maximum en hiver et minimum en été.

Prélèvement de la Vallée du Rabodeau :

- Vis-à-vis de la microflore bactérienne, l'effet rhizosphère éloignée est faiblement stimulant, avec des valeurs peu différentes selon les saisons. Quant au rapport R/S en fonction de la rhizosphère proche, il est toujours très élevé avec des valeurs maximum au printemps de la deuxième année de développement et au moment de la floraison.
- Si on envisage la microflore fongique, dans la zone proche, l'effet maximum est atteint au printemps de la première et de la deuxième année de croissance; l'effet minimum est enregistré au moment de la floraison. Dans la zone éloignée, les valeurs, peu différentes de 1, sont sans signification.
- Pour les germes responsables de la fixation de l'azote atmosphérique, aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, la stimulation maximum, dans les rhizosphères proche et éloignée, est constatée chez la digitale en fleur.
- La présence des germes nitrificateurs n'a été observée que dans un seul échantillon, celui de la rhizosphère proche, au moment de la floraison de *Digitalis purpurea* L.
- En ce qui concerne les germes responsables de la cellulolyse en aérobiose, tous les sols témoin en sont dépourvus, quelle que soit la période de prélèvement. Ces germes ont cependant été mis en évidence, en nombre très faible, dans la zone proche de la digitale en fleur. L'effet rhizosphère vis-à-vis des germes cellulolytiques anaérobies est également maximum au moment de la floraison.

- Quant aux germes sulfato-réducteurs, leur nombre est toujours très faible; cependant l'effet rhizosphère présente un maximum chez la digitale en fleur.
- 3) De l'étude dynamique des quatre groupements fonctionnels (protéolyse, ammonification, dénitrification, amylolyse), on peut dégager les observations suivantes :

Prélèvement de la Vallée de la Plaine :

- Vis-à-vis de la flore protéolytique, l'effet rhizosphère éloignée est inhibiteur et cette inhibition est maximum à la saison d'été des deux années de croissance de la digitale. Pour ces mêmes périodes, la rhizosphère proche est au minimum de stimulation, l'effet maximum étant atteint au moment de la fructification.
- Cette observation est valable pour la flore ammonifiante.
- Sur la flore dénitrifiante, l'effet rhizosphérique proche est maximum à l'automne (digitales de première et deuxième années) et minimum au printemps.
- Sur la flore amylolytique, l'effet rhizosphère est nul dans les prélèvements d'été et maximum à l'automne (digitales de première et deuxième années).

Prélèvement de la Vallée du Rabodeau :

- On note une stimulation maximum de la flore protéolytique dans la rhizosphère proche des digitales prélevées pendant l'été et l'absence d'action inhibitrice dans la rhizosphère éloignée.
- Sur la flore ammonifiante, l'effet rhizosphère proche est maximum pour le prélèvement d'été de la digitale de première année et il est minimum à la période de fructification. Quant à l'effet rhizosphère éloignée, la stimulation est maximum à la germination et à la fructification.
- La stimulation de la dénitrification dans les zones proche et éloignée est maximum à la floraison.
- L'effet rhizosphère proche et éloignée sur la flore amylolytique a sa valeur maximum pour les prélèvements effectués à la saison d'été, une inhibition étant enregistrée à l'automne de la première année de croissance de la digitale.

2° Caractères physico-chimiques des échantillons de sol témoin et de rhizosphère éloignée en fonction des saisons et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.

- Quels que soient les échantillons et les lieux de prélèvement des digitales, les valeurs du pH dénotent peu de variations.
- Les teneurs en carbone et azote des échantillons de sol prélevés dans la Vallée de la Plaine sont nettement supérieures à celles des sols prélevés dans la Vallée du Rabodeau. Cependant les rapports C/N sont très voisins, ce qui signifie que les taux de ces deux constituants chimiques varient parallèlement. Pour les prélèvements effectués dans la Vallée de la Plaine, les teneurs en azote et en carbone des échantillons de sol et de rhizosphère éloignée sont sensiblement identiques au printemps et en été, par contre, en automne et en hiver, les doses d'azote et de carbone de la rhizosphère sont multipliées par 2,5 par rapport aux sols témoin. Pour les prélèvements de la Vallée du Rabodeau, des différences un peu moins importantes (1,5 à 2) entre le sol témoin et la rhizosphère sont observées au cours de toutes les saisons, sauf en hiver et au printemps de la deuxième année de végétation de la digitale.
- Quant aux taux d'humus dans les deux échantillons de sol et de rhizosphère prélevés simultanément au même lieu, pour les digitales de la Vallée de la Plaine, la différence est nette en automne où la quantité dosée dans la rhizosphère est double de celle du sol témoin. Par contre, pour les digitales de la Vallée du Rabodeau, on note cette même différence dans les prélèvements à chacune des saisons, sauf en hiver où la quantité d'humus de la rhizosphère est la moitié de celle du sol témoin.

III. — CONCLUSIONS

De notre étude de l'effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. à l'état spontané, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° *Digitalis purpurea* L. exerce toujours, dans la rhizosphère proche, un effet stimulant plus ou moins marqué pour les différents groupements morphologiques et fonctionnels, ce que nous avons déjà mis en évidence antérieurement (9).

2° En fonction des lieux de prélèvement, l'action stimulante de la rhizosphère proche est plus ou moins marquée; elle est d'autant

plus grande que le sol témoin est plus pauvre en micro-organismes, cette observation étant valable pour tous les groupements morphologiques et fonctionnels.

3° Les valeurs de l'effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. au moment de la floraison sont très différentes si on compare les deux prélèvements de la Vallée de la Plaine et de la Vallée du Rabodeau, donc différentes selon les caractères du sol où le développement de la digitale a lieu.

4° L'étude de l'influence des saisons et du stade de croissance de la digitale pourprée sur les micro-organismes de la zone radicellaire effectuée sur les deux prélèvements de la Vallée de la Plaine et de la Vallée du Rabodeau, a révélé des variations totalement différentes. Vis-à-vis de tous les groupements morphologiques et fonctionnels, on observe, en général, un effet rhizosphère proche stimulant minimum pendant la saison d'été et plus particulièrement au moment de la floraison pour *Digitalis purpurea* L. prélevée dans la Vallée de la Plaine alors que pour celle prélevée dans la Vallée du Rabodeau, à un même stade de croissance, on obtient un effet stimulant maximum.

5° Quant à l'effet rhizosphère éloignée, pour l'un ou l'autre prélèvement, il s'est toujours révélé très faiblement stimulant. Mais les variations sous l'influence des saisons et du stade de croissance évoluent dans le même sens que dans la zone radicellaire proche, à savoir que, pour les digitales se développant dans la Vallée de la Plaine, l'effet minimum, nul ou faiblement inhibiteur, est obtenu au moment de la floraison, alors qu'à ce même stade de croissance on observe un effet maximum pour la digitale prélevée dans la Vallée du Rabodeau. Cette faible action au niveau de la rhizosphère éloignée laisse à penser qu'à une faible distance des radicelles, l'influence de celles-ci est pratiquement nulle.

CHAPITRE III

ETUDE QUALITATIVE DES GERMES DE LA RHIZOSPHERE DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

Nous venons de voir que l'influence du système radicellaire d'une plante sur la microflore tellurique se traduit par une augmentation du nombre des micro-organismes et par une stimulation de diverses activités fonctionnelles. Cette influence se manifeste également par des modifications qualitatives. De nombreux travaux, relatés en partie au Chapitre II, ont tenté d'apprécier les répercussions de l'effet rhizosphère sur la répartition des espèces bactériennes, en fonction de leur colorabilité et de leur morphologie, de leurs caractères taxonomiques et de leurs besoins nutritionnels; on a ainsi pu noter des différences entre la composition des flores rhizosphériques et non rhizosphériques, les résultats étant d'ailleurs assez variés selon les cas.

Nos essais sur l'influence qualitative de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. ont porté, d'une part, sur l'étude des affinités tinctoriales et des caractères morphologiques des germes isolés dans la zone radicellaire et en dehors de cette zone et, d'autre part, sur la recherche des besoins nutritionnels de ces différents germes.

I. — TECHNIQUE D'ISOLEMENT DES GERMES

Pour effectuer l'étude qualitative des germes de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L., nous avons opéré sur des plants prélevés dans la Vallée de la Plaine. Ayant observé que, vis-à-vis de la microflore

totale, la rhizosphère avait un effet stimulant maximum au printemps (tableau XII), nous avons choisi cette saison pour procéder à nos prélèvements. Voulant entreprendre une étude comparative, nous avons fait simultanément porter nos essais sur des digitales prélevées au printemps de la première et de la deuxième année de développement.

Le choix du milieu servant à l'isolement des micro-organismes du sol est un problème assez délicat (20), car, d'une part, beaucoup de milieux usuels ne conviennent pas au développement de tous les germes telluriques et, d'autre part, les germes isolés ne présentent plus les caractères originaux qu'ils possèdent dans le sol. Personnellement, nous avons utilisé une technique un peu particulière pour isoler les souches des divers échantillons de sol et nous avons opéré comme suit : à partir de cultures obtenues sur les différents milieux servant à la détermination des groupements fonctionnels, nous avons procédé à des isolements sur gélose à l'extrait de terre. Avec ces cultures sur milieux électifs, nous pensions faire ainsi une première sélection de souches et opérer sur des mélanges de germes dont le nombre serait moins élevé.

Des suspensions-dilutions 10^{-1} de la rhizosphère éloignée et de la rhizosphère proche d'une digitale de première année, de la rhizosphère éloignée et de la rhizosphère proche d'une digitale de deuxième année, et du sol témoin prélevé à distance des plants de digitales, sont ensemencées sur les différents milieux servant à la détermination des groupements fonctionnels * à savoir :

- fixation de l'azote atmosphérique en aérobie et anaérobie,
- protéolyse,
- ammonification,
- dénitrification,
- amylolyse,
- cellulolyse en aérobie et anaérobie.

Les milieux répartis sous leur volume habituel sont ensemencés avec la quantité de suspension-dilution 10^{-1} ainsi qu'il a été précisé dans le tableau I. L'incubation se fait à 28° C pendant 14 jours.

A partir de ces cultures, on réalise des isolements, en boîtes de Pétri, sur milieu à l'extrait de terre gélosé. Après 7 jours d'incubation à 28° C, on note, sur chaque boîte de Pétri, la présence d'un certain nombre de colonies bactériennes, se différenciant soit par leur type (type R ou type S), soit par leur pigmentation. Chaque colonie présentant un aspect particulier est prélevée et inoculée sur une gélose à l'extrait de terre répartie en tube et inclinée.

* Les germes nitrificateurs étant absents, les milieux correspondant à la détermination de ce groupement fonctionnel n'ont pas été utilisés.

Ces cultures, incubées 7 jours à 28° C, présentant un développement assez abondant, ont servi à l'établissement des caractères morphologiques et de la colorabilité des germes isolés, d'une part, et à la détermination de leurs besoins nutritionnels, d'autre part. Nos essais n'ont porté que sur les germes appartenant au sous-embranchement des Eubactériales.

II. — AFFINITES TINCTORIALES ET CARACTERES MORPHOLOGIQUES DES GERMES ISOLÉS

Chaque souche bactérienne isolée à partir des divers échantillons de sol (rhizosphères éloignées et proches de digitale de première et deuxième année et sol témoin) a été soumise à un examen microscopique après coloration par la méthode de Gram, selon la technique classique utilisée en Microbiologie.

a) *Résultats.*

Nous avons divisé les germes examinés en deux groupes : d'une part, les germes Gram positif, parmi lesquels on distingue les Cocci, les Bacilles sporulés et les Bacilles asporulés et, d'autre part, les germes Gram négatif, parmi lesquels on différencie les Bacilles longs et les Bacilles très courts ou Coccobacilles. Pour chacun de ces groupes, on exprime la fréquence par le pourcentage de souches isolées répondant à l'une ou l'autre caractéristique. Les résultats sont réunis dans le tableau XXII.

TABEAU XXII

Répartition des germes selon leur morphologie et leurs affinités tinctoriales
sous l'influence de l'effet rhizosphère de Digitalis purpurea L.

	Sol témoin	Digitale 1 ^{ère} Année		Digitale 2 ^{ème} Année	
		Rhizosphère éloignée	Rhizosphère proche	Rhizosphère éloignée	Rhizosphère proche
		%	%	%	%
Germes GRAM +	Cocci	12	6,25	20	5,9
	Bacilles sporulés	20	25	8,55	17,0
	Bacilles asporulés	0	43,75	34,35	29,4
Germes GRAM -	Bacilles longs	20	0	5,7	11,8
	Coccobacilles	48	25	31,4	35,3
					55,6

b) *Discussion.*

Cette étude sur les affinités tinctoriales et la morphologie des souches isolées dans les divers échantillons, nous permet de faire différentes remarques.

1° Les résultats obtenus avec la digitale de première année et celle de deuxième année sont différents.

2° Le sol témoin non rhizosphérique contient une forte proportion de Bacilles Gram négatif (Bacilles longs et courts), par contre, peu de Cocci Gram positif.

3° Dans la rhizosphère de la digitale de première année, on a une augmentation des germes Gram positif et une diminution des germes Gram négatif.

4° Dans la rhizosphère de la digitale de deuxième année, le pourcentage des Bacilles Gram négatif est sensiblement le double de celui obtenu respectivement avec la zone éloignée et la zone proche de la digitale de première année, les chiffres de rhizosphère proche et de sol témoin étant assez voisins.

III. — BESOINS NUTRITIONNELS DES GERMES ISOLES

Le pouvoir de synthèse des germes est très variable; certains, possédant un pouvoir de synthèse très élevé, peuvent donc cultiver sur des milieux strictement minéraux; d'autres, au contraire, possédant un faible pouvoir de synthèse, ne se développent qu'en présence de nombreuses substances, en particulier d'acides aminés et de facteurs de croissance. En utilisant toute une gamme de milieux, LOCHHEAD et les chercheurs de l'école canadienne (88) ont tenté d'établir une classification des Bactéries en les divisant en un certain nombre de groupes caractérisés par leur niveau de pouvoir de synthèse. Pour cela, on introduit dans un milieu minéral des corps de plus en plus complexes pour permettre la culture de ces micro-organismes. En outre, les recherches sur la répartition des germes dans les rhizosphères de différentes plantes et dans les sols témoin correspondants (96) ont révélé une modification très profonde de l'équilibre de la flore bactérienne en fonction du pouvoir de synthèse et des exigences nutritionnelles : on note en général une augmentation du pourcentage des Bactéries ayant besoin d'acides aminés et une diminution de celles exigeant de l'extrait de levure.

Utilisant la technique de LOCHHEAD A.-G. et CHASE F.-E. (71), nous avons tenté de classer, suivant leur pouvoir de synthèse, les souches bactériennes isolées de la rhizosphère de la digitale et du sol témoin où se développe cette plante, et dont nous avons étudié précédemment les caractères morphologiques.

a) *Technique d'étude :*

Les souches isolées sont repiquées sur un milieu semi-solide à l'extrait de terre et chacune d'elles est testée vis-à-vis de 7 milieux de complexité croissante.

1° Milieux utilisés.

1. Milieu semi-solide à l'extrait de terre :

A un litre d'extrait de terre, on ajoute 0,2 gr de phosphate bipotassique, 0,1 gr d'extrait de levure et 8 gr de gélose. Ce milieu est réparti à raison de 5 ml par tube, stérilisé et incliné au moment des ensemencements.

2. Milieux d'étude du pouvoir de synthèse :

Les 7 milieux utilisés ont la composition suivante :

I. *Milieu de base : milieu B.*

Dans un litre d'eau distillée, on dissout 1 gr de glucose, 1 gr de phosphate monopotassique, 0,5 gr de nitrate de potassium, 0,2 gr de sulfate de magnésium, 0,1 gr de chlorure de calcium, 0,1 de chlorure de sodium, 0,01 gr de chlorure ferrique; on ajuste à pH 6,8. Ce milieu, qui permet la caractérisation des germes à pouvoir de synthèse élevé, sert également à préparer les milieux plus complexes.

II. *Milieu avec acides aminés : milieu A.*

A 1 000 ml de milieu de base, on ajoute 0,05 gr de chacun des acides aminés suivants : cystéine, alanine, proline, asparagine, acide glutamique, acide aspartique, arginine, leucine, glycine, lysine.

III. *Milieu avec facteurs de croissance : milieu G.*

A 1 000 ml de milieu de base, on ajoute 0,05 gr de cystéine, 200 μ gr de pyridoxine et de riboflavine, 100 μ gr de thiamine, d'acide pantothénique et d'acide nicotinique, 0,1 μ gr de biotine, 0,05 gr d'inositol.

IV. *Milieu avec acides aminés et facteurs de croissance : milieu AG.*

A un litre de milieu de base, on ajoute les mêmes quantités d'acides aminés que dans le milieu A et les mêmes quantités de facteurs de croissance que dans le milieu G.

V. *Milieu à l'extrait de levure : milieu Y.*

L'extrait de levure est additionné au milieu de base dans la proportion de 1 gr pour 1 000 ml.

VI. *Milieu à l'extrait de terre : milieu S.*

A 750 ml de milieu de base, on ajoute 250 ml d'extrait de terre.

VII. *Milieu à l'extrait de levure et à l'extrait de terre : milieu YS.*

Au milieu à l'extrait de sol, on ajoute 1 gr pour 1 000 d'extrait de levure.

Tous ces milieux sont répartis à raison de 5 ml par tube.

2° Ensemencements.

Les souches isolées à partir des 5 échantillons de sol sont repiquées sur le milieu semi-solide à l'extrait de terre. Chacune des cultures obtenue après 7 jours d'incubation à 28° C est ensemencée sur les 7 milieux d'étude du pouvoir de synthèse. Le développement microbien est exprimé après 5 jours d'incubation à 28° C, au moyen d'une notation chiffrée de 1 à 4, 4 étant la valeur maximum du trouble observé.

b) *Résultats :*

Le développement microbien sur l'un ou l'autre de ces milieux permet de classer les germes en sept groupes :

1) *Groupe B* : les germes ayant des exigences faibles et pouvant synthétiser les éléments indispensables à leur croissance à partir de nitrate de potassium et du glucose, leur développement sur ce milieu B est maximum et n'est pas supérieur sur les autres milieux.

2) *Groupe A* : les germes exigeant un ou plusieurs acides aminés se développent abondamment sur le milieu A et peu ou pas sur le milieu B.

3) *Groupe G* : les germes exigeant des facteurs de croissance donnent sur le milieu G un trouble important alors que leur développement est faible ou nul sur les milieux B et A.

4) *Groupe AG* : les germes exigeant des acides aminés et des facteurs de croissance se développent abondamment sur le milieu AG et peu ou pas sur les milieux B, A et G.

5) *Groupe Y* : les germes requérant des facteurs inconnus contenus dans l'extrait de levure fournissent sur le milieu Y un développement important mais qui est nul ou très faible sur les milieux B, A, G et AG.

6) *Groupe S* : les germes nécessitant des facteurs non identifiés de l'extrait de terre donnent un développement maximum sur le milieu S mais nul ou faible sur les milieux B, A, G, AG, Y.

7) *Groupe YS* : les germes nécessitant à la fois les facteurs non identifiés de l'extrait de levure et de l'extrait de terre se développent seulement sur le milieu YS.

Les résultats obtenus lors de l'étude des besoins nutritionnels des souches isolées de nos divers échantillons de sol sont réunis dans les tableaux XXIII, XXIV, XXV. Ces tableaux expriment, d'une part, le pourcentage des germes testés vis-à-vis des différents milieux d'étude du pouvoir de synthèse et, d'autre part, la relation des exigences nutritionnelles et du type morphologique.

TABLEAU XXIII

Besoins nutritionnels des germes isolés du sol témoin où se développe
Digitalis purpurea L. (Vallée de la Plaine)

		Groupes nutritionnels						
		B	A	G	AG	Y	S	YS
		%	%	%	%	%	%	%
Pourcentage global de germes isolés se répartissant dans les différents groupes		24	16	0	24	28	0	8
Germes GRAM +	Cocci	8	0	0	0	4	0	0
	Bacilles sporulés	4	4	0	8	4	0	0
	Bacilles asporulés	0	0	0	0	0	0	0
Germes GRAM -	Bacilles longs	4	4	0	8	4	0	0
	Coccobacilles	8	8	0	8	16	0	8

TABLEAU XXIV

Besoins nutritionnels des germes isolés de la rhizosphère
de Digitalis purpurea L. (printemps 1^{ère} année de développement)

			Groupes nutritionnels							
			B	A	G	AG	Y	S	YS	
			%	%	%	%	%	%	%	
Répartition morphologique par groupe nutritionnel	Rhizosphère éloignée	Pourcentage global de germes isolés se répartissant dans les différents groupes		18,75	37,5	0	18,75	12,5	0	12,5
		Germes GRAM +	Cocci	0	0	0	6,25	0	0	0
			Bacilles sporulés	12,25	6,25	0	0	0	0	6,25
			Bacilles asporulés	6,25	6,25	0	12,5	12,5	0	6,25
		Germes GRAM -	Bacilles longs	0	0	0	0	0	0	0
			Coccobacilles	0	25	0	0	0	0	0
	Rhizosphère proche	Pourcentage global de germes isolés se répartissant dans les différents groupes		45,7	22,8	0	2,9	28,6	0	0
		Germes GRAM +	Cocci	8,6	5,7	0	0	5,7	0	0
			Bacilles sporulés	5,7	2,85	0	0	0	0	0
			Bacilles asporulés	8,6	2,85	0	2,9	20	0	0
		Germes GRAM -	Bacilles longs	5,7	0	0	0	0	0	0
			Coccobacilles	17,1	11,4	0	0	2,9	0	0

TABLEAU XXV

Besoins nutritionnels des germes isolés de la rhizosphère de
Digitalis purpurea L. (printemps 2^{ème} année de développement)

			Groupes nutritionnels							
			B	A	G	AG	Y	S	YS	
			%	%	%	%	%	%	%	
Répartition morphologique par groupe nutritionnel	Rhizosphère éloignée	Pourcentage global de germes isolés se répartissant dans les différents groupes		23,5	23,5	0	11,8	29,4	0	11,8
		Germes GRAM +	Cocci	0	0	0	0	5,9	0	0
			Bacilles sporulés	5,9	0	0	0	11,7	0	0
			Bacilles asporulés	5,9	17,6	0	0	0	0	5,9
		Germes GRAM -	Bacilles longs	0	0	0	0	5,9	0	5,9
			Coccobacilles	11,7	5,9	0	11,8	5,9	0	0
	Rhizosphère proche	Pourcentage global de germes isolés se répartissant dans les différents groupes		29,7	25,9	11,1	11,1	18,5	0	3,7
		Germes GRAM +	Cocci	0	0	0	0	0	0	0
			Bacilles sporulés	3,7	0	0	0	0	0	3,7
			Bacilles asporulés	7,4	0	7,4	3,7	3,7	0	0
		Germes GRAM -	Bacilles longs	0	11,1	0	0	3,7	0	0
			Coccobacilles	18,6	14,8	3,7	7,4	11,1	0	0

c) *Discussion* :

L'étude des exigences nutritionnelles des germes isolés du sol témoin et des rhizosphères de digitales met en évidence les points suivants :

1) Dans le sol témoin, le quart, environ, des souches isolées a des exigences faibles et les 2/5 nécessitent pour leur croissance des acides aminés seuls ou associés à des facteurs de croissance.

2) Dans la rhizosphère, les germes se comportent différemment selon qu'ils ont été isolés dans la zone radicellaire éloignée ou proche. Pour la digitale de première année, on note, dans la rhizosphère éloignée une nette augmentation des Bactéries exigeant des acides aminés, le pourcentage des autres groupes ayant diminué. Par contre, dans la rhizosphère proche, cette augmentation du groupe A est peu marquée, mais les germes à faible exigence représentent un pourcentage sensiblement double de celui du sol témoin. Quant à la digitale de deuxième année, les germes qui présentent des besoins en acides aminés sont peu stimulés et ceux à faible exigence sont retrouvés pratiquement en même proportion que dans le sol témoin.

3) Dans la relation des besoins nutritionnels avec le type morphologique, aucun fait marquant ne semble susceptible d'être signalé, les résultats étant assez variés.

IV. — CONCLUSION

L'étude de l'évolution de la microflore tellurique, tant au point de vue des caractères morphologiques que des exigences nutritionnelles de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. prélevée dans la Vallée de la Plaine, présente des divergences avec les travaux d'autres auteurs.

— En effet, contrairement à ce qui est généralement signalé, nous n'avons pas observé, pour la rhizosphère de digitale par rapport au sol témoin, d'augmentation du pourcentage des Bacilles Gram négatif au détriment des Cocci et des Bacilles sporulés Gram positif. J. POCHON (84) a d'ailleurs signalé l'existence de résultats différents, en contradiction avec cette conception généralement admise.

— De plus, la répartition des germes dans les groupements nutritionnels ne dénote pas une stimulation significative des Bactéries à faible pouvoir de synthèse, ni de diminution sensible des germes requérant les facteurs de croissance fournis par l'extrait de levure. Mais il est à noter cependant que des différences s'observent en fonction du stade de croissance des digitales pourprées selon qu'il s'agit de rhizosphère proche ou éloignée.

DEUXIÈME PARTIE

Etude microbiologique
de la rhizosphère
de *Digitalis purpurea* L.
en culture expérimentale

Dans son habitat naturel, une plante vit, pratiquement toujours, à proximité d'autres espèces végétales et certains groupements sont ainsi tout à fait caractéristiques. Dans de telles associations chaque plante conditionne, par l'intermédiaire de son système racinaire, sa rhizosphère proche mais influe également sur celle de la plante voisine. De cet état de fait, il découle que la caractérisation d'une rhizosphère de plante « in situ » et croissant à l'état spontané, puisse être entachée d'erreurs. C'est pour éliminer ce facteur que de nombreux auteurs se sont tournés vers l'analyse des rhizosphères de plantes cultivées expérimentalement et hors de toute association végétale.

Il nous a donc paru opportun de procéder de façon analogue afin de pouvoir comparer les résultats obtenus précédemment, dans l'étude de la digitale « in situ », avec ceux pouvant être enregistrés pour une culture isolée et artificielle de cette plante.

Nos essais ont porté sur des cultures expérimentales de *Digitalis purpurea* L. réalisées, d'une part, sur sol vosgien, permettant la croissance spontanée de cette plante et, d'autre part, sur un sol artificiel.

Le premier groupe d'essais avait pour but d'éliminer l'influence de la macroflore d'association, tout en respectant le facteur écologique : sol. Dans le second type d'essais, nous avons plus spécialement voulu caractériser le facteur plante et déterminer le type de rhizosphère qu'elle était susceptible de conditionner en propre et en fonction d'un sol strictement artificiel.

Pour pouvoir valablement comparer les résultats de cette étude avec ceux obtenus pour les analyses « in situ », nous avons tenté de suivre les effets rhizosphère sur les différents substrats durant un cycle complet de croissance de *Digitalis purpurea* L., soit donc pendant deux ans, de la germination à la fructification. Cette tentative, qui s'est soldée, dans certains cas, par un échec, nous a entraîné à étudier, également certains facteurs particuliers, tels que celui de l'origine de la graine et l'action du forçage.

C'est donc l'ensemble des résultats concernant le développement en culture expérimentale de la digitale pourprée qui seront rapportés et discutés dans cette deuxième partie de notre travail.

CHAPITRE I

CULTURE EXPÉRIMENTALE DE *DIGITALIS PURPUREA L.* SUR SOL DE DÉVELOPPEMENT SPONTANÉ

La plante vit, à l'état spontané, dans un milieu écologique tel que de nombreux facteurs interfèrent et contribuent à sa croissance et à sa reproduction; aussi les cultures expérimentales permettent-elles de dissocier ces diverses influences. Dans un premier groupe d'expériences, nous avons réalisé des cultures de digitale pourprée sur le terrain où celle-ci se développe spontanément et nous avons choisi, à cet effet, le sol témoin de la Vallée de la Plaine. Afin d'étudier quelques facteurs conditionnant la croissance, nous avons effectué des semis, d'une part, avec des graines récoltées sur des plants se développant à cet endroit et, d'autre part, avec des graines provenant de digitales pourprées cultivées dans des conditions non écologiques et nous nous sommes proposé d'étudier l'effet rhizosphère de plantules ayant atteint le même stade de végétation.

I. — TECHNIQUE DE CULTURE EXPERIMENTALE

L'avantage primordial de la culture expérimentale réside dans la détermination de conditions très précises d'expériences.

— L'humidité est convenablement réglée, car les arrosages sont faits en fonction des conditions atmosphériques : on tient compte de l'évaporation et de plus on évite des pertes par lessivage lors de pluies trop abondantes.

— La température est semblable pour tous les échantillons; on peut donc réaliser des semis dans des conditions strictement identiques et comparer ainsi la rapidité du développement suivant les substrats employés.

— Le sol est débarrassé de toute flore d'association, ce qui évite les effets rhizosphère secondaires. De plus, un témoin maintenu dans les mêmes conditions de température et d'humidité constitue un échantillon de référence valable.

Nos essais de semis ont été conduits de la façon suivante : le sol choisi pour la culture est placé dans des petites coupelles de terre cuite et humidifié 24 heures avant l'ensemencement; on répartit alors en surface les graines de digitale, au nombre de 100 par coupelle. Ces semis ayant toujours été effectués au début du mois de mars, la température extérieure, trop basse, risquait d'entraver la germination ou d'altérer les jeunes plantules. C'est pourquoi, les coupelles ont été maintenues à la température ambiante du laboratoire et dans un endroit très éclairé. L'arrosage a été assuré chaque jour avec un dispositif donnant une fine pulvérisation d'eau afin que la surface de la terre ne soit jamais desséchée. Un arrosage trop brutal est, en effet, à éviter, car il risquerait d'enfoncer les graines dans le sol, ce qui peut entraver la germination. Après un temps plus ou moins long, on voit apparaître de minuscules plantules sous forme d'une petite « crosse ». Vers la mi-avril, les semis sont placés sur une terrasse, donc aux conditions de température extérieure, mais à l'abri des précipitations atmosphériques, ce qui permet de régler l'humidité des sols par des arrosages étudiés.

Quand les plantules ont 3 à 4 centimètres de hauteur et possèdent 4 feuilles bien développées, elles sont transplantées dans des petits pots de 4 centimètres de diamètre sur le même substrat de culture. Des repotages successifs sont réalisés en fonction de la croissance de la plante et ceux-ci ont été exécutés pratiquement dès que le chevelu radicellaire devient trop important et qu'il apparaît à l'orifice inférieur du pot. Au moment de chaque repotage, on a confectionné des pots témoin qui sont conservés et arrosés de la même façon que les pots de digitales.

En règle générale, quels que soient le substrat utilisé et l'origine des graines, on n'a jamais pu obtenir à la température du laboratoire (voisine de 18° C), de germination convenable ni de développement satisfaisant des plantules si les semis étaient faits avant la troisième décade de février. Il s'est avéré que plus on retardait la mise en route des semis, plus le pourcentage de germination était élevé et le déve-

loppement de la plantule rapide. Les meilleurs résultats ont été obtenus, pour des essais effectués aux environs du 15 avril.

Dans nos essais de semis sur le sol de développement spontané de *Digitalis purpurea* L., nous avons utilisé la terre prélevée dans la Vallée de la Plaine au point que nous avons délimité au chapitre I de ce travail. Cette terre, ramenée au laboratoire en mi-janvier, a été stockée pendant 6 semaines avant la confection des semis. A titre comparatif, les semis ont été faits avec des graines de deux origines différentes; les unes récoltées au moment de la fructification en fin septembre sur les digitales se développant à ce point de prélèvement et les autres récoltées sur des digitales pourprées d'origine vosgienne et cultivées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy.

II. — ESSAIS DE CULTURE EXPERIMENTALE A PARTIR DE GRAINES DE *DIGITALIS PURPUREA* L. D'ORIGINE VOSGIENNE SUR SON PROPRE SOL

Des semis sont réalisés dans les conditions précédemment décrites. Au bout de 9 jours, on voit apparaître deux ou trois plantules par coupelle et ce faible pourcentage de germination n'augmente pas dans les jours qui suivent; les petites tigelles avec les deux feuilles cotylédonairees restent à un état stationnaire pendant 15 à 18 jours *, puis dégènerent et finalement disparaissent. De cet essai il faut donc conclure, d'une part, au faible pourcentage de germination des graines (le plus faible que nous ayons observé, pour l'ensemble de nos semis), et, d'autre part, à l'impossibilité pour les plantules ayant réussi à germer, de se développer, comme il le sera montré plus en détail à propos d'essais rapportés plus loin.

Pour pallier, dans une certaine mesure, à cet échec difficilement explicable et qui ne nous a donc pas permis d'étudier l'effet rhizosphère d'une digitale pourprée d'origine vosgienne, croissant expérimentalement sur son propre sol de développement, nous avons tenté de transplanter en pots une digitale pourprée s'étant développée « in situ » et de suivre son développement. Une jeune plante de première année a donc été prélevée au mois de mai dans les Vosges, repotée et placée dans les mêmes conditions expérimentales que les semis.

Tout au cours de l'été, la digitale a végété, son aspect s'est très peu modifié; elle a acquis quelques feuilles qui sont toujours restées de

* Moyennes obtenues sur les divers semis répétés plusieurs années consécutives.

petite taille. A l'automne, nous avons effectué une analyse microbiologique de la rhizosphère afin de pouvoir comparer les résultats avec ceux que nous avons obtenus pour une digitale se développant « in situ » et se trouvant à un stade de croissance identique.

La préparation des échantillons de rhizosphère et de sol témoin et la détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques ont été exécutées suivant le protocole décrit au début de notre travail.

a) *Résultats :*

Les résultats des caractères microbiologiques et de l'effet rhizosphère font l'objet du tableau XXVI et de la figure 11. Quant aux caractères physico-chimiques des échantillons de sol témoin et de rhizosphère éloignée, ils sont consignés dans le tableau XXVII.

Le tableau XXVIII permet la comparaison des effets rhizosphère d'une digitale pourprée s'étant développée spontanément puis entretenue en pot sur sol homologue, avec ceux d'une digitale au même stade de croissance ayant poursuivi son développement dans son habitat normal.

TABLEAU XXVI

Effet rhizosphère d'un plant de Digitalis purpurea L. d'origine vosgienne
entretenu (en pot) sur terre des Vosges

		Microflore totale	Champignons	N										C		S				
				Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amyloïse			Cellulolyse			
				Aérobiose	Anaérobiose	DM	DM	DM	DM	In	In	DM	DM	DM	DM		G/gr	G/gr		
																			Aérobiose	Anaérobiose
JOURS	G/gr	C/gr	G/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	In	In	DM	DM	DM	G/gr	G/gr	15	14	14		
	Sol témoin	1 160 000	9 500	4	530	10 ^{-0,4}	10 ^{-1,1}	10 ^{-4,4}	10 ^{-5,3}	0	0	10 ^{-0,5}	10 ^{-2,1}	10 ^{-0,2}	10 ^{-1,6}	0	4			8
	Rhizosphère éloignée	51 300	6 380	4	57	0	0	10 ^{-2,5}	10 ⁻⁴	0	0	0	10 ^{-1,5}	10 ^{-0,8}	10 ^{-1,3}	0	0	0	0	0
	Rhizosphère proche	12 350 000	159 400	247	323	10 ^{-1,9}	10 ^{-3,8}	10 ^{-5,7}	10 ^{-6,7}	0	0	10 ^{-1,1}	10 ^{-2,5}	10 ^{-1,7}	10 ^{-2,2}	0	665	47		
	JOURS	R/S	R/S	R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ In	≠ In	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S	R/S	R/S		
	Rhizosphère éloignée	0,04	0,67	1	0,1	-0,4	-1,1	-1,9	-1,3	0	0	-0,5	-0,6	0,6	-0,3	0	0	0	0	0
	Rhizosphère proche	10,6	16,7	61,7	0,6	1,5	2,7	1,3	1,4	0	0	0,6	0,4	1,5	0,6	0	166	5,8		
	Caractères microbiologiques																			
	Effet rhizosphère																			

Fig. 11. — Effet rhizosphère d'un plant de *Digitalis purpurea* L.
d'origine vosgienne entretenu (en pot) sur terre des Vosges.

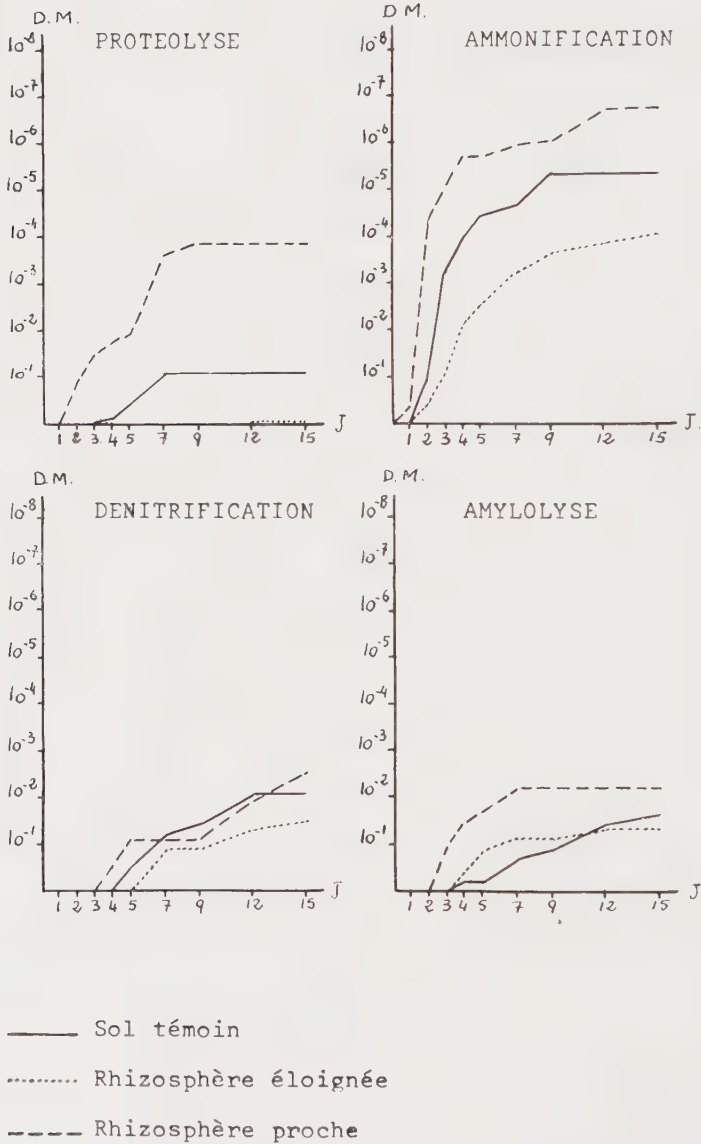


TABLEAU XXVII

Effet rhizosphère d'un plant de Digitalis purpurea L. d'origine
vosgienne entretenu (en pot) sur terre des Vosges
(caractères physico-chimiques)

	pH	Carbone gr %	Azote gr %	Rapport C/N	Humus gr %
Sol témoin	4,6	0,849	0,093	9,12	0,433
Rhizosphère éloignée	4,7	0,708	0,101	7,01	0,530

Comparaison des effets rhizosphères d'un plant de Digitalis purpurea L. entretenu (en pot) sur terre des Vosges et d'un plant de Digitalis purpurea L. dans son habitat naturel au même stade de croissance

[illegible]

b) *Discussion* :

De l'étude de la rhizosphère de digitale pourprée d'origine vosgienne et entretenue en pot sur son propre sol, il ressort que dans la zone rhizosphérique éloignée, l'effet est nul ou inhibiteur. Dans la zone proche, cet effet est faiblement stimulant vis-à-vis des groupements fonctionnels, à l'exception de la cellulolyse en anaérobiose et la fixation d'azote en aérobiose, pour lesquels on observe une stimulation très nette. Quant aux caractères physico-chimiques, les résultats obtenus avec l'échantillon de sol témoin et celui de la rhizosphère éloignée sont assez semblables.

La comparaison des effets rhizosphère d'un plant de *Digitalis purpurea* L. entretenu sur sol vosgien et d'un plant développé « in situ », tous deux étant au même stade de croissance, permet de noter que pour la digitale transplantée, il y a une baisse considérable du rapport R/S vis-à-vis de la microflore bactérienne et au contraire une légère augmentation en ce qui concerne la microflore fongique. Les diverses activités fonctionnelles sont plus ou moins stimulées dans l'un ou l'autre cas, mais l'effet est toujours assez faible; la nitrification et la cellulolyse en aérobiose font défaut.

III. — ESSAIS DE CULTURE EXPERIMENTALE SUR SOL DES VOSGES AVEC DES GRAINES DE *DIGITALIS PURPUREA* L. CULTIVEE AU JARDIN BOTANIQUE

Tous nos essais de germination des graines de digitale d'origine vosgienne sur sol homologue ayant échoué, nous avons tenté des essais similaires avec des graines de digitale « acclimatée » du Jardin Botanique de Nancy.

Ces tentatives ont parfaitement réussi et nous ont permis d'enregistrer d'excellents pourcentages de germination. Ensemencées dans des conditions strictement identiques à celles des expériences précédemment rapportées, ces graines germent dès le septième jour après l'ensemencement, soit donc 48 heures avant les semis faits avec des graines d'origine vosgienne. A ce moment, le pourcentage de germination est d'environ 10 % et celui-ci augmente les jours suivants pour atteindre 65 % le treizième jour. Les tigelles continuent alors à se développer rapidement et après six semaines les feuilles, au nombre de quatre, ont atteint une longueur de 2 à 3 centimètres environ. Les petites plantules sont repiquées individuellement sur le même sol dans des

pots de 4 centimètres de diamètre qui sont placés sur terrasse en plein air en prenant toutefois quelques précautions pour préserver les plants des gelées nocturnes. La croissance s'accélère et un deuxième repotage dans des pots de 7 centimètres de diamètre s'impose après trois semaines. Vingt jours après ce deuxième repotage, les feuilles au nombre de 6 à 8 forment une rosette et leur taille moyenne est de 4 à 5 centimètres.

A saison identique, les développements obtenus en pots sont sensiblement analogues aux plants de digitale de première année se développant spontanément dans les Vosges. Cette constatation nous a donc incité à entreprendre l'étude des caractères de la rhizosphère de nos digitales de culture. Les résultats ainsi obtenus ont été comparés avec ceux enregistrés pour des analyses de digitales vosgiennes « in situ » de même stade de croissance.

Les calculs des effets rhizosphère faisant appel aux valeurs notées pour les sols témoin stockés et entretenus (arrosages) dans des conditions analogues à celles des semis, il nous a paru opportun d'étudier plus spécialement l'évolution des caractères microbiologiques de ceux-ci.

Pour toutes les analyses le protocole de préparation des échantillons et de détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques utilisé est celui déjà décrit au chapitre des techniques.

a) Résultats :

Les résultats des différents essais entrepris sont groupés dans les tableaux XXIX à XXXIII et la figure 12. Ils rendent compte :

— des caractères microbiologiques et physico-chimiques et de l'effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. cultivée en pot (tableaux XXIX et XXX, figure 12).

— des caractères microbiologiques et physico-chimiques des sols témoin déterminés au moment du prélèvement, puis lors des analyses de rhizosphère des semis. Ces deux résultats sont comparés avec ceux obtenus pour un sol homologue mais prélevé dans les Vosges au moment des analyses de rhizosphère de digitales en culture expérimentale (tableaux XXXI et XXXII).

— de la comparaison des effets rhizosphère constatés pour les digitales en culture expérimentale, d'une part, et de ceux notés pour une digitale « in situ » au même stade de croissance, d'autre part. (Tableau XXXIII.)

TABLEAU XXIX

Effet rhizosphère de Digitalis purpurea L. (graines du jardin botanique)
cultivée (en pot) sur terre des Vosges

	Microflore totale	Champignons	N										C		S		
			Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification	Amylolyse	Cellulolyse				
			Aérobiose	Anaérobiose	DM	G/gr	DM	DM	In	In			DM	DM		G/gr	G/gr
JOURS	14	7	14	14	5	15	15	14	14	5	15	5	15	14	14	15	
Sol témoin	381 000	73 250	4	2 070	$10^{-2}, 2$	$10^{-3}, 5$	10^{-4}	$10^{-5}, 5$	0	0	$10^{-0}, 4$	$10^{-1}, 1$	$10^{-1}, 8$	0	163	6	
Rhizosphère éloignée	55 500	35 750	29	378	$10^{-1}, 4$	$10^{-3}, 6$	$10^{-4}, 4$	$10^{-5}, 5$	0	0,1	0	$10^{-2}, 2$	$10^{-1}, 7$	$10^{-4}, 6$	0	500	
Rhizosphère proche	13 300 000	280 000	66	950	$10^{-4}, 3$	$10^{-5}, 2$	$10^{-6}, 2$	$10^{-7}, 9$	0,2	1,1	$10^{-0}, 8$	$10^{-1}, 9$	$10^{-4}, 9$	0	902 500	57	
JOURS	14	7	R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ In	≠ In	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S	R/S	R/S	
Rhizosphère éloignée	0,14	0,48	7,2	0,18	-0,8	0,1	0,4	0	0	0,1	-0,4	0,4	0,6	3,2	0	3	
Rhizosphère proche	34,9	3,8	16,5	0,45	2,1	1,7	2,2	2,4	0,2	1,1	0,4	3,1	0,8	2,6	0	5 536	
Caractères microbiologiques																	
Effet rhizosphère																	

TABLEAU XXX

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. (graines du jardin
botanique) cultivée (en pot) sur terre des Vosges
(caractères physico-chimiques)

	pH	Carbone gr %	Azote gr %	Rapport gr %	Humus gr %
Sol témoin	5,35	1,02	0,15	6,8	0,400
Rhizosphère éloignée	4,9	1,01	0,126	8	0,359

Fig. 12. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.
(graines du Jardin Botanique)
cultivée (en pot) sur terre des Vosges.

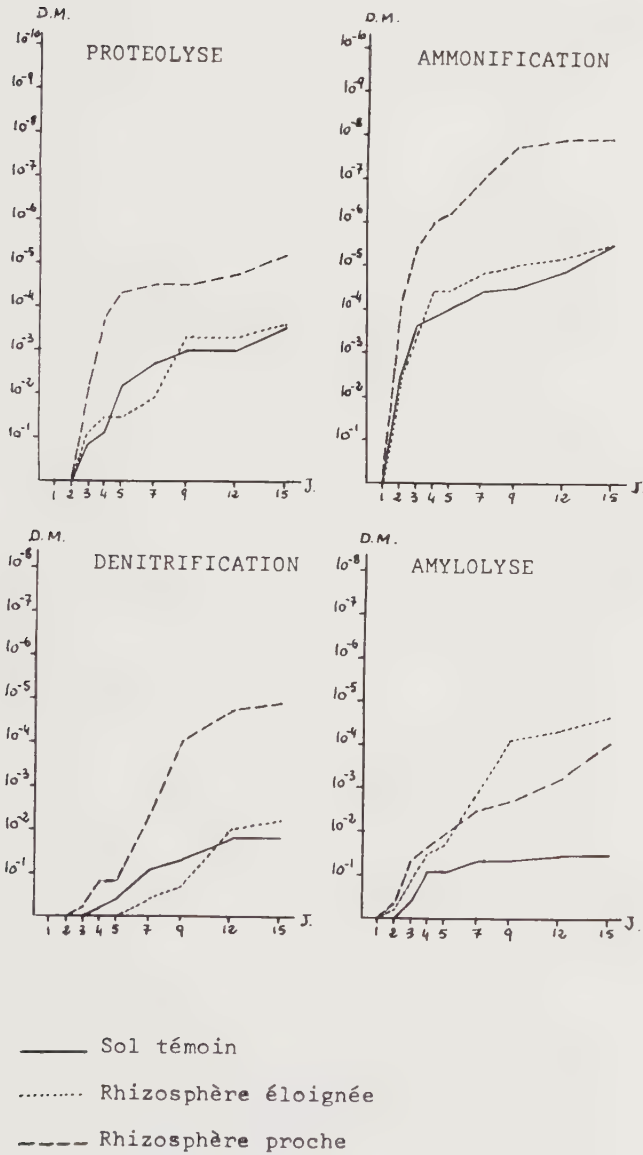


TABLEAU XXXI
Evolution des caractères microbiologiques du sol des Vosges en fonction
du temps et du stockage

	Microflore totale	Champignons	N										C				S
			Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amylolyse		Cellulolyse		
			Aérobiose	Anaérobiose	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	
JOURS	14	7	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	15
	G/gr	C/gr	G/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	In	In	DM	DM	DM	DM	G/gr	G/gr	G/gr
Sol témoin (hiver) au moment du prélèvement	944 000	19 350	12	415	10 ⁻¹	10 ^{-2,1}	10 ^{-4,3}	10 ^{-5,9}	0	0	0	10 ^{-2,7}	10 ^{-0,8}	10 ^{-3,9}	0	30	0
Sol témoin stocké au moment des essais de rhizosphère	381 000	75 250	4	2 070	10 ^{-2,2}	10 ^{-3,5}	10 ⁻⁴	10 ^{-5,5}	0	0	10 ^{-0,4}	10 ^{-1,8}	10 ^{-1,1}	10 ^{-1,4}	0	163	6
Sol homologue "in situ" (été)	1 802 000	70 800	4	1 030	10 ^{-2,3}	10 ^{-3,3}	10 ^{-5,5}	10 ^{-5,8}	0	0	10 ^{-0,9}	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,1}	9	260	51

TABLEAU XXXII

Evolution des caractères physico-chimiques du sol des
Vosges en fonction du temps et du stockage

	pH	Carbone gr %	Azote gr %	Rapport C/N	Humus gr %
Sol témoin (hiver) au moment du prélèvement	4,1	1,10	0,126	8,73	0,403
Sol témoin stocké au moment des essais de rhizosphère	5,35	1,02	0,15	6,8	0,400
Sol homologue "in situ" (été)	4,6	1,086	0,248	4,37	0,367

b) *Discussion* :

L'examen et la comparaison des différents résultats de l'ensemble de cette étude permettent de dégager un certain nombre de faits pouvant s'énoncer comme suit :

1° Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en culture expérimentale :

Quels que soient les groupements morphologiques ou fonctionnels, l'effet rhizosphère éloignée est faible, nul ou même inhibiteur. Quant à l'effet rhizosphère proche, il est peu stimulant, sauf pour les germes responsables de la cellulolyse en anaérobiose. A l'exception de la fonction amylolytique, il est toujours supérieur à l'effet rhizosphère éloignée. L'action stimulante dans la zone rhizosphérique est, comme on l'a toujours constaté, plus marquée, pour la microflore bactérienne que pour la microflore fongique.

En ce qui concerne les caractères physico-chimiques, les valeurs données par le sol témoin et l'échantillon de rhizosphère éloignée sont peu différentes.

2° Caractères microbiologiques et physico-chimiques des sols témoin.

Le stockage en pot, pendant 6 mois, de la terre témoin, prélevée en hiver, s'accompagne d'une forte baisse de la microflore bactérienne. Comparativement, le même type de sol « in situ » présente, lui, à cette époque (été) une microflore sensiblement double de celle d'hiver. La flore fongique du sol témoin stocké suit, par contre, les mêmes variations que celle du témoin d'été, puisque les chiffres trouvés sont très voisins et représentent sensiblement le quadruple de la valeur d'hiver. Une augmentation parallèle du nombre des germes se multipliant en anaérobiose (fixateurs d'azote, cellulolytiques, sulfato-réducteurs) est également à noter par rapport aux chiffres d'hiver. Les autres activités des groupements fonctionnels présentent peu de variations d'un sol témoin à l'autre. Quant aux caractères physico-chimiques, c'est surtout le pH qui s'est modifié, le sol témoin des cultures expérimentales étant moins acide.

3° Comparaison des effets rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en culture expérimentale et « in situ » :

En général, les valeurs du rapport R/S ne sont pas très dissimilaires. Les différences à noter sont :

— la présence des germes responsables de nitrification dans la zone rhizosphérique proche de la digitale en culture.

- des effets presque toujours plus faibles pour la digitale se développant spontanément, notamment pour la microflore bactérienne, la cellulolyse anaérobie, la sulfato-réduction, la protéolyse, l'ammonification, la dénitrification, l'amylolyse.

IV. — CONCLUSION

Indépendamment de l'origine de la graine, la digitale pourprée cultivée sur sol vosgien possède une rhizosphère dont l'effet est peu stimulant sur tous les groupements morphologiques et fonctionnels des micro-organismes telluriques; cette stimulation n'étant réelle que dans la zone proche, la zone éloignée subit une influence nulle ou même, bien souvent, inhibitrice. Ces résultats concordent sensiblement avec les observations faites « in situ ».

CHAPITRE II

CULTURES EXPERIMENTALES DE *DIGITALIS PURPUREA* L. SUR SOL ARTIFICIEL

Pour préciser davantage la notion de l'effet rhizosphère, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier ce problème à propos de digitales cultivées sur sol artificiel. En effet, l'utilisation d'un tel substrat présente des avantages qui peuvent être résumés ainsi :

— le sol, renfermant différents éléments bien déterminés, présente une composition fixe et peut être préparé de façon identique à tout moment, en fonction des besoins.

— les éléments séparés ne permettant pas isolément le développement d'une végétation variée ou abondante, on évite ainsi, dans le mélange final, la présence, en quantité gênante de substances radioactives soit toxiques et susceptibles d'entraver la germination ou le développement des plantes en expérience, soit, au contraire, susceptibles de favoriser une microflore tellurique donnée et donc de fausser les résultats de l'effet rhizosphère de la plante à étudier.

Le problème d'un sol artificiel pour semis de plantes en pots a fait, depuis un certain nombre d'années déjà, l'objet de nombreuses recherches, surtout à l'étranger. C'est ainsi qu'en 1940, J.-C. LAWRENCE, à la « John Horticultural Institution » de Merton-Londres, a publié les caractères de « I.C. Composts ». Plus tard, en Allemagne, le Professeur FRUHSTORFER a préparé un mélange appelé « Einheitserde ». Aux U.S.A., l'Université de Los Angeles a mis au point une terre connue sous le nom de « U.C. Soil Mix ». Tous ces mélanges renferment, en

proportion variable, de la tourbe et du sable, auxquels on ajoute des engrais constitués essentiellement par du sulfate d'ammonium, du superphosphate, du sulfate de potassium. Plus récemment, N. CÉZARD, Jardinier-Chef du Jardin Botanique de Nancy (16. 17. 18) a mis au point un « mélange unique » adapté à la culture en pots de toutes sortes de plantes tant calcifuges que calcicoles. Ce mélange, appelé par l'auteur « Terre Uniforme complète » ou plus simplement « Terre Uniforme », a d'ailleurs fait l'objet d'un brevet.

Dans des essais préliminaires (10), nous avons pu constater que des semis de digitales pourprées sur ce substrat artificiel présentaient comparativement à ceux effectués sur une terre des Vosges sur laquelle *Digitalis purpurea* L. se développe spontanément, une croissance beaucoup plus rapide et plus vigoureuse. Aussi, avons-nous retenu la Terre Uniforme pour nos cultures expérimentales de digitales et procédé à une étude de ce sol artificiel (10).

I. — COMPOSITION ET PRINCIPAUX CARACTERES DE LA TERRE UNIFORME

A) Composition.

Les éléments constituant la Terre Uniforme sont au nombre de cinq, à savoir :

- Tourbe noire : cette tourbe provient de la Tourbière du Beillard (Vosges).
- Tourbe blonde : d'origine vosgienne, elle aussi, elle est fournie par la Tourbière du Bas-Rupt, appelée également Tourbière du Grand-Etang et exploitée par les Etablissements Vizier, de Provins. Cette tourbe est desséchée et compressée en vue de son stockage.
- Sable : il est constitué par un mélange à parties égales de grès vosgien et de sable gréseux (rhétien) prélevé dans la région de Saint-Nicolas-de-Port (Meurthe-et-Moselle).
- Claine : appelé également laitier granulé, c'est un sous-produit des Hauts Fourneaux de Neuves-Maisons (M.-et-M.), exploités par la Société des Aciéries et Tréfileries de Neuves-Maisons-Châtillon qui nous a communiqué la proportion des principaux constituants entrant dans sa composition :

SiO ₂	=	35	S	=	0.8
CaO	=	39	Mn	=	0,48
Fe	=	1	Al ₂ O ₃	=	14

— Fertilisants : sous cette dénomination, on désigne un mélange qui a la composition suivante :

Nitrate de potasse	1.000 gr.
Superphosphate	2.500 gr.
Coquilles d'huîtres broyées	400 gr.
Corne broyée	2.000 gr.

Ces quantités sont utilisées pour la préparation d'un mètre cube de Terre Uniforme.

La Terre Uniforme est préparée, après émiettage des tourbes noire et blonde, par simple mélange des divers constituants dans les proportions suivantes :

Tourbe noire	2,5 parties
Tourbe blonde	2,5 —
Sable	4 —
Claine	4 —

Fertilisants : Quantité appropriée au volume de terre préparé.

Une trituration assure une bonne répartition des éléments et l'obtention d'un sol artificiel aussi homogène que possible.

Ainsi préparée, on obtient une terre présentant un aspect peu dense, aérée et parsemée de particules plus ou moins grosses de claine. Pour l'utilisation, N. CÉZARD recommande de ne pas trop tasser la Terre Uniforme dans les pots; bien drainée, cette terre ne conserve jamais d'eau en excès, ce qui évite une pourriture éventuelle des racines.

B) *Caractères.*

L'étude des caractères microbiologiques des différents constituants de la Terre Uniforme a montré que la tourbe blonde est l'élément qui présente l'activité microbiologique la plus importante, tant du point de vue de la microflore que des groupements fonctionnels, alors que la claine est un élément à activité très faible. Au point de vue physico-chimique, les tourbes sont acides (pH voisin de 4), riches en azote et carbone et la claine est alcaline (pH 9), très pauvre en azote et en carbone.

L'étude microbiologique des mélanges successifs des divers éléments de la Terre Uniforme et dans les proportions indiquées ci-dessus, a montré que le mélange des deux tourbes noire et blonde donne des résultats intermédiaires à ceux des éléments étudiés séparément. Quand on ajoute le sable, on observe un effet-dilution très net, se traduisant

par une baisse considérable du nombre des germes appartenant aussi bien aux groupements morphologiques que fonctionnels. L'addition de claine aux trois constituants précédents provoque une alcalinisation du mélange qui se traduit par une légère augmentation de l'activité micrologique et ceci malgré l'effet-dilution. Enfin, quand aux éléments précédents, on ajoute les « fertilisants », on obtient une Terre Uniforme fraîchement préparée et l'activité microbiologique est un peu modifiée; on observe alors une faible diminution de la microflore totale, mais, par contre, une légère augmentation de l'activité des germes ammonificateurs et protéolytiques.

Pensant que les divers constituants, caractérisés, entre autre, par des pH très différents, pouvaient réagir entre eux pendant un certain temps après la préparation de la Terre Uniforme, nous avons entrepris une étude microbiologique dynamique de ce sol artificiel. Dans cette étude, on a pu mettre en évidence un certain nombre de faits (10, 11).

1° La Terre Uniforme subit quelques variations dans les jours qui suivent sa préparation; cependant une stabilisation des caractères microbiologiques se produit vers le quinzième jour. Elle peut être alors définie de la manière suivante : terre acide, à rapport C/N moyen, à teneur en humus faible. La microflore bactérienne et fongique est peu abondante et les différents groupes fonctionnels dénotent une activité très modérée; de plus, on observe une absence des germes responsables de la nitrification et de la cellulolyse en aérobiose.

2° En l'absence de tout traitement, les caractères microbiologiques de la Terre Uniforme, définis au quinzième jour, se maintiennent dans le temps. Par contre, le pH tend progressivement vers la neutralité.

3° Sous l'influence d'un arrosage régulier, et compte tenu des variations saisonnières, on peut noter avec le temps une très nette augmentation de la microflore totale et de l'activité de certains groupements fonctionnels (ammonification, protéolyse, dénitrification, amylolyse, cellulolyse en anaérobiose, sulfato-réduction) et même l'apparition des germes responsables de la nitrification et de la cellulolyse en aérobiose.

C) Conclusion.

La Terre Uniforme présente donc des caractères microbiologiques et physico-chimiques assez voisins de la terre des Vosges sur laquelle *Digitalis purpurea* L. se développe spontanément et les résultats encourageants que nous avons obtenus quant au pourcentage de germination, à la vitesse et à l'intensité de la croissance, nous ont incité à utiliser



Semis de 5 semaines



Semis de 10 semaines

PLANCHE V

Semis de *Digitalis purpurea* L.

Coupelle de gauche : Terre uniforme.

Coupelle de droite : Terre des Vosges.

ce « mélange unique » pour les cultures expérimentales de digitale pourprée sur sol artificiel et l'étude de la microflore rhizosphérique. Nous avons réalisé simultanément des semis avec des graines provenant de plantes de la Vallée de la Plaine et de digitales pourprées cultivées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy, c'est-à-dire les graines des deux origines différentes dont nous avons étudié le développement sur sol vosgien dans le chapitre précédent.

II. — ESSAIS DE CULTURE EXPERIMENTALE SUR TERRE UNIFORME

Les divers semis sur Terre Uniforme ont été réalisés simultanément à ceux effectués sur sol vosgien et dont l'étude a été faite au chapitre précédent afin de pouvoir comparer, au point de vue du développement, le rôle du sol utilisé. La série des essais réalisés sur Terre Uniforme a été faite avec des graines de deux origines différentes, à savoir, d'une part, des graines récoltées sur des plants de *Digitalis purpurea* L. se développant spontanément dans la Vallée de la Plaine et, d'autre part, des graines provenant de digitales pourprées cultivées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy.

L'étude de la germination des graines sur différents substrats a montré que sur le sol artificiel la germination est un peu plus tardive que sur le sol vosgien, les premières plantules des deux types de graines n'apparaissant que 11 jours (au lieu de 7 jours) après l'ensemencement. Dès le treizième jour, cependant, on note que 65 % des graines ont germé et à ce moment le retard n'est plus sensible, les jeunes plantules ayant atteint la taille de celles se développant sur sol naturel. Les semis sur la Terre Uniforme présentent une croissance identique à celle des semis à partir des graines du Jardin Botanique sur sol des Vosges. Au bout de 6 semaines les plantules sont repiquées dans des petits pots de 4 cm de diamètre. Les opérations de rempotage (aussi bien la première que la deuxième) sont effectuées le même jour pour tous les semis en expérience. Mais après le deuxième rempotage et au moment des essais d'analyse de la rhizosphère, on note une légère différence dans la taille des plantes : les plantules issues du semis fait avec les graines du Jardin Botanique et cultivées sur Terre Uniforme présentent des feuilles dont la taille est légèrement supérieure à celle des autres plantes. Cette différence s'accroîtra au cours du développement de la digitale.

Vingt jours donc après le deuxième repotage sur Terre Uniforme, les plantules des deux semis sont soumises à une analyse qui permet d'établir les caractères microbiologiques et physico-chimiques :

- des échantillons de rhizosphères proche et éloignée de chacune des petites digitales à graines d'origine différente;
- du sol témoin qui a été placé dans les mêmes conditions que les plantes en pots.

Le protocole décrit au chapitre des techniques est adopté, tant pour la préparation des échantillons que pour la détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques.

a) *Résultats.*

Les résultats des caractères microbiologiques et de l'effet rhizosphère obtenus avec la digitale issue de la graine récoltée dans la Vallée de la Plaine sont réunis dans le tableau XXXIV et la figure 13.

Quant à ceux obtenus avec les digitales issues de graines récoltées au Jardin Botanique, ils sont donnés dans le tableau XXXV et la figure 14.

Les caractères physico-chimiques des deux séries d'essais sont groupés dans le tableau XXXVI.

Le tableau XXXVII rapporte les effets rhizosphère comparés des développements de digitales à graines d'origine différente et de digitale spontanée de la Vallée de la Plaine au même stade de croissance.

Fig. 13. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.
(graines d'origine vosgienne) cultivée (en pot)
sur Terre Uniforme.

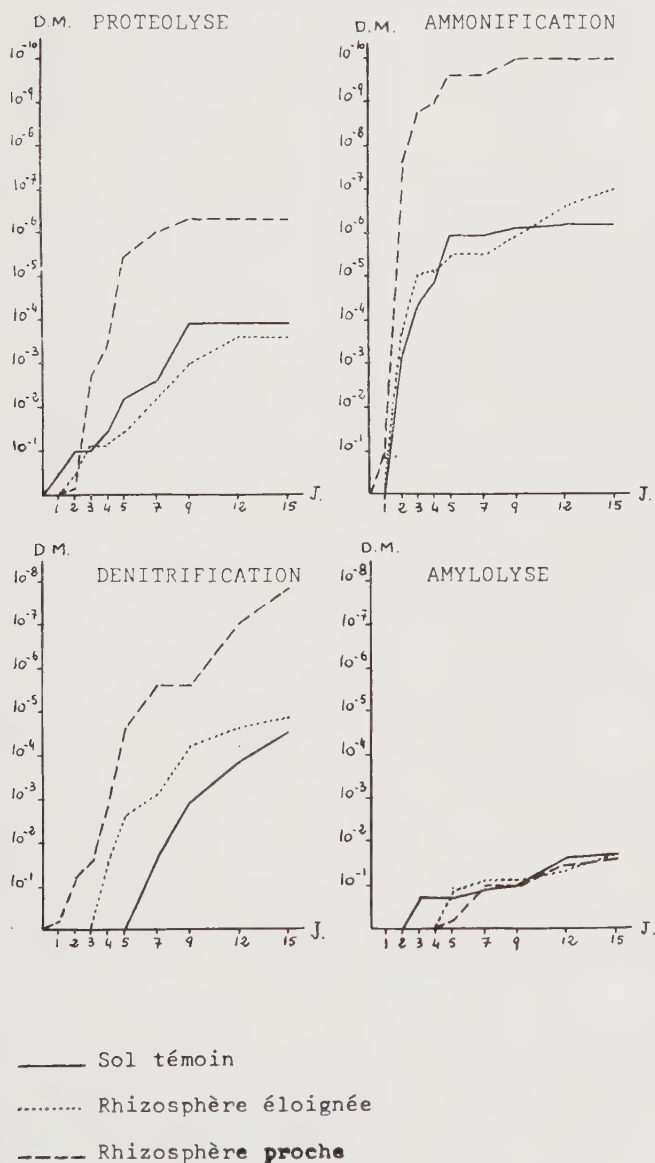


Fig. 14. — Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L.
(graines du Jardin Botanique) cultivée (en pot)
sur Terre Uniforme.

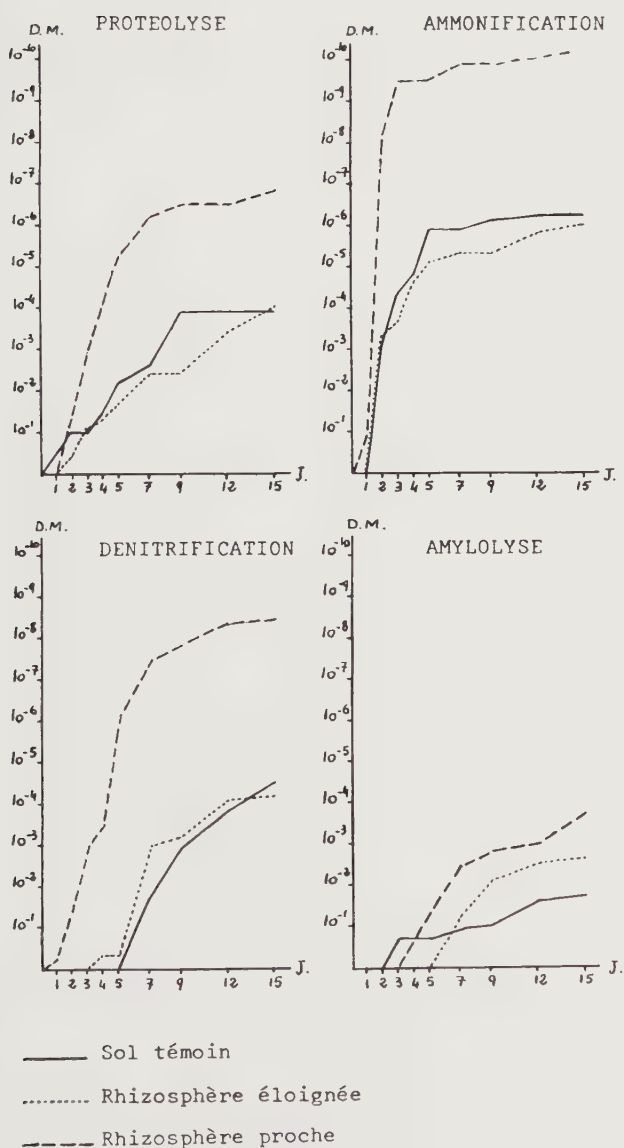


TABLEAU XXXVI
Effet rhizosphère de Digitalis purpurea L. cultivée (en pot) sur Terre
Uniforme
(Caractères physico-chimiques)

	pH	Carbone gr %	Azote gr ‰	Rapport C/N	Humus gr ‰
Rhizosphère éloignée	Sol témoin	0,825	0,080	10,3	0,043
	Digitale (issue de graine des Vosges)	0,939	0,077	12,2	0,085
	Digitale (issue de graine du jardin botanique)	1,362	0,082	16,6	0,083

b) *Discussion.*

De cette étude de la rhizosphère de la digitale pourprée en culture sur sol artificiel, on peut dégager les faits suivants :

1) En examinant tout d'abord les résultats tant microbiologiques que physico-chimiques obtenus avec l'échantillon témoin de Terre Uniforme, on constate que les variations notées en fonction du temps et sous l'influence d'arrosages aussi fréquents que pour les plantes cultivées, confirment les observations que nous avons déjà faites (11) : l'évolution de la Terre Uniforme se traduit par l'apparition d'une microflore bactérienne correspondant à celle d'un sol relativement riche et les activités fonctionnelles atteignent des taux moyens; de plus, le pH se rapproche de la neutralité (pH 6,8).

2) L'examen des deux tableaux XXXIV et XXXV permettant d'évaluer la micropopulation et l'activité des groupements fonctionnels des échantillons de rhizosphères des deux digitales d'origine différente, montre que les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur, sauf en ce qui concerne la microflore fongique qui est beaucoup plus importante pour la digitale issue de graine d'origine vosgienne. Aussi les effets rhizosphère éloignée et proche comparés entre eux (à l'exception du rapport R/S vis-à-vis des Champignons) ont-ils des valeurs assez voisines. De plus, il est à noter que, comme on l'a déjà souvent remarqué, l'effet rhizosphère éloignée est faible, nul ou même inhibiteur.

3) Quant aux caractères physico-chimiques (tableau XXXVI), les deux échantillons de rhizosphère éloignée des deux digitales d'origine différente ont des pH identiques, des taux d'humus et d'azote égaux entre eux et au sol témoin; par contre, le taux de carbone est beaucoup plus élevé pour la digitale issue de la graine du Jardin Botanique.

4) Si on compare les valeurs des effets rhizosphère de digitales en culture sur Terre Uniforme et de digitales se développant spontanément dans la Vallée de la Plaine, les unes et les autres étant au même stade de croissance (tableau XXXVII), on constate que la rhizosphère éloignée ne subit qu'une action très faible, nulle, ou même inhibitrice, tout à fait comparable dans les trois cas. Par contre, dans la rhizosphère proche, on note un effet stimulant beaucoup plus important chez les digitales cultivées sur un sol artificiel.

III. — ETUDE DE QUELQUES FACTEURS SUSCEPTIBLES D'INFLUENCER LE DEVELOPPEMENT DE LA DIGITALE SUR SOL ARTIFICIEL

A) GÉNÉRALITÉS.

Quand on peut réaliser des cultures expérimentales d'une plante donnée, il est également très intéressant de pouvoir provoquer la germination des graines à n'importe quelle saison de l'année, d'accélérer la croissance de la plante, d'abréger le cycle végétatif et de régler la floraison. De nombreux travaux ont permis de mettre en évidence le rôle joué par certains agents physiques dont l'action combinée permet le développement des végétaux (36) ; la lumière et la température jouant à ce point de vue un rôle très important, nous les étudierons successivement.

Dans l'influence de la lumière, il faut distinguer différents facteurs : la durée de l'éclairement, la qualité de la lumière et l'intensité lumineuse. On a désigné sous le nom de photopériodisme (24) l'influence de l'éclairement journalier sur la croissance de la plante. La durée du jour, c'est-à-dire l'intervalle de temps compris entre le lever et le coucher du soleil varie avec les mois et la latitude ; pour la région parisienne, elle est de 11 heures au mois de mars et de 16 heures au mois de juillet. Aussi a-t-on utilisé la lumière artificielle pendant une partie de la nuit pour prolonger en hiver la durée de l'éclairement du jour. Certaines lampes fluorescentes fournissent une lumière assez voisine de celle de l'éclairement solaire. Un éclairage de 50 W par m² durant la nuit permet d'augmenter la durée du jour. Des essais sur la croissance de divers végétaux ont mis en évidence que des modifications de la durée quotidienne d'éclairement peuvent abréger ou allonger le cycle végétatif et régler, dans une certaine mesure, la floraison. Celle-ci peut, non seulement, être plus précoce, mais encore, se produire l'hiver au lieu de l'été (49, 50, 52, 51). Cependant les espèces végétales présentent des variations très marquées dans leur sensibilité à la durée de l'éclairement journalier ; c'est ainsi qu'on distingue, en premier lieu, les plantes adaptées aux jours longs (> 12 heures) parmi lesquelles appartiennent la plupart des espèces végétales des régions tempérées qui fleurissent au moment des longues journées d'été, en second lieu, les plantes adaptées aux jours courts (< 12 heures) qui fleurissent au printemps ou à l'automne dans les régions tempérées. De plus, un équilibre entre la lumière et la température est nécessaire et il est propre à chaque cas particulier.

La nature des radiations joue un rôle important qu'il est utile d'envisager dans l'éclairage artificiel : le bleu et le rouge, surtout,

seraient, parmi les radiations de la lumière solaire, responsables de la presque totalité de l'activité photosynthétique; l'ultra-violet aurait, au contraire, une action gênante. Aussi, en horticulture, emploie-t-on pour l'éclairage artificiel pendant la nuit, soit la lumière rouge orangé de lampes au néon de 100 W avec réflecteur, distantes de 1,20 mètre entre elles et placées à 1,25 mètre au-dessus du sol, soit la lumière blanche de tubes fluorescents.

Si l'éclairement est extrêmement important, l'effet de la température est lui aussi prépondérant pour le développement des plantes cultivées. Il s'exerce de différentes façons.

— Beaucoup de plantes ont un optimum thermique de germination et de début de développement plus élevé qu'ultérieurement. C'est pourquoi, pratiquement, on réalise des semis en serres et on procède ensuite à une transplantation à l'air libre. De nombreuses espèces végétales des régions tempérées exigent un optimum thermique de germination compris entre 12 et 20° C.

— La température réalisée dans la période qui suit immédiatement le semis, affecte le mode de développement ultérieur de la plante. De plus, chaque phase du cycle végétatif a ses exigences thermiques qui augmentent jusqu'à la maturité. Le développement est cependant sous la dépendance non pas d'une température moyenne mais sous celle de la dispersion des températures autour de cette moyenne et de l'amplitude thermique, c'est-à-dire de l'écart entre la température du jour et de la nuit; cette variation étant appelée thermopériodisme « à rythme quotidien ». Une telle fluctuation se montre plus favorable à la croissance que la constance thermique.

— Enfin, dans la température, le rôle du sol et de l'air doit être considéré séparément; un chauffage du sol pouvant assurer la germination, sera insuffisant pour assurer la croissance s'il n'est pas accompagné de celui de l'air nécessaire pour les parties aériennes solidaires des racines.

L'assimilation enfin dépend à la fois de la température et de l'éclairement; elle a une valeur maximum pour une température variable avec la luminosité et elle décroît ensuite quand la température augmente, la température optimum étant d'autant plus élevée que l'éclairement est plus intense. Selon les espèces végétales, elle est comprise entre 15 et 30° C pour une luminosité normale. Si la température optimum n'est pas atteinte, une diminution de la luminosité peut être compensée par une augmentation de la température. Dans les conditions naturelles des régions tempérées, l'assimilation, par unité de surface foliaire, est en corrélation positive avec la radiation solaire et la tempé-

rature; aussi, pour les cultures en serres, est-il indispensable de connaître l'optimum du rapport radiation/température. Dans les zones tempérées, le maximum thermique est atteint en juillet-août alors que le maximum de radiation est observé en juin; pour une même valeur de la radiation, la température est plus basse au printemps qu'à l'automne. Ainsi, à Paris, si une radiation de 300 cal./J. correspond à une température de 7° C au printemps (fin mars) et de 14° C à l'automne (septembre), on constate que le rapport radiation/température, R/T, est sensiblement égal à 40 au printemps, il s'abaisse au cours de l'été et atteint une valeur voisine de 20 à l'automne.

Pour les plantes bisannuelles, un facteur supplémentaire intervient encore, c'est le froid. En terre, la gelée provoque le foisonnement du sol et le soulèvement des racines, il en résulte des dégâts par traumatisme; de plus, la formation de cristaux de glace aux dépens de l'eau intra ou extra-cellulaire, produit des lésions mécaniques qui peuvent entraîner la mort des tissus. La baisse de température est moins nocive si elle survient graduellement et la résistance de la plante est accrue si une température voisine de 0° C pendant quelque temps assure une déshydratation progressive des tissus. Elle est maximum pendant la période d'arrêt de la végétation, les tissus jeunes riches en eau et les organes floraux sont très sensibles au froid. L'humidité du milieu est également défavorable à la résistance des plantes aux basses températures.

Mais le froid ne doit pas être considéré uniquement comme un facteur nocif; il est indispensable, en effet, au cycle végétatif et plus spécialement à l'élimination de la dormance de l'embryon de certaines graines (25); ainsi celles-ci ne germent-elles normalement qu'après un séjour plus ou moins long à une température voisine de 0° C et à l'état humide. La pratique empirique, appelée stratification, utilisée par les horticulteurs, consiste à exposer les graines, placées dans du sable, aux intempéries hivernales. Mais cette technique peut être améliorée par séjour dans une chambre frigorifique : c'est la postmaturation qui permet ensuite une germination rapide donnant des plantes vigoureuses. Ainsi des graines de Blé ayant subi un début de germination, maintenues ensuite à une température voisine de 0° et à l'obscurité pendant un temps plus ou moins long, suivant la variété, donneront, sous l'influence de longs éclaircissements, une plante à complet développement dans une période de temps beaucoup plus courte : cette technique est connue sous le nom de printanisation ou de vernalisation.

Les plantes, à un moment de leur cycle végétatif, présentent un temps d'arrêt pendant lequel leur croissance cesse : on est dans la phase de dormance. Divers facteurs physiques provoquent l'élimination

de la dormance, mais pour les plantes des pays tempérés, c'est le froid qui est le procédé normal d'éveil de la dormance et c'est celui qui est le plus couramment utilisé dans les opérations horticoles de préparation au forçage. En effet, une plante « dormante » ne peut être amenée à pousser à contre-saison, c'est-à-dire être « forcée », tant qu'elle est en état de dormance. Dans leur habitat naturel, l'apparition de la phase de dormance dans le cycle de développement de la plante, est associée à des conditions thermo-périodiques saisonnières et la plupart des plantes bisannuelles manifestent des exigences plus ou moins grandes au rythme saisonnier des températures. Le terme de « thermo-périodisme à rythme annuel » a été employé par J.-M. ARTHUR et E.-K. HARVILL (5) dans une étude sur la digitale : ces auteurs montrent que cette plante ne consent à fleurir, et seulement en journées longues, qu'après avoir été soumise en rosettes à un froid aussi bas que 5° C et pendant un temps assez long. C'est typiquement un cas de besoin absolu de vernalisation.

Toutes ces conditions physiques susceptibles d'influencer la croissance des espèces végétales ont pu être étudiées, pour certaines d'entre elles, d'une façon systématique, grâce au phytotron. Ce dispositif très complet permet de contrôler la température, l'humidité, la composition de l'atmosphère à l'aide d'un courant climatisé, l'éclairement qui est soit naturel, soit artificiel au moyen de tubes luminescents permettant de régler à volonté l'intensité, la composition spectrale et la durée: la nutrition minérale est réalisée par des systèmes de culture dite « sans sol », alors que la nutrition organique est assurée par l'intensité lumineuse et la teneur en gaz carbonique de l'air. Le premier phytotron fut conçu à Pasadena (Californie), en 1949, par F.-W. WENT: mais, depuis quelques années, Gif-sur-Yvette possède aussi un phytotron permettant de réaliser à volonté toutes les conditions climatiques désirées.

B) EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

Les essais que nous avons rapportés précédemment, démontrent que l'on peut obtenir des germinations et des développements satisfaisants de *Digitalis purpurea* L. sur un sol artificiel, tel que la « Terre Uniforme ». L'analyse des effets rhizosphère a également montré que ceux-ci étaient comparables à ceux observés « in situ ». Il nous importait donc d'étudier un cycle végétatif complet de digitale pourprée en culture artificielle afin de déterminer si les effets rhizosphère restaient comparables à ceux « in situ » pour ce cycle entier. Il nous a, enfin, également paru intéressant d'essayer d'accélérer la croissance de la digitale, plante bisannuelle, et de suivre, en cas de réussite, les répercussions de cet abrègement du cycle végétatif sur la rhizosphère.

C'est donc ce double aspect qui a guidé nos essais rapportés ci-après.

1^o Réalisation du cycle végétatif complet dans des cultures de digitale.

Les plantes issues des différents semis réalisés au début de mars avec des graines d'origines diverses et sur sols différents, ont subi trois rempotages sur les sols respectifs. Tous les pots, maintenus en plein air, ont été soumis à des arrosages journaliers et abondants en raison de l'évaporation due à la chaleur.

A l'automne, les plants présentaient des aspects très différents suivant l'origine de la graine et le substrat de culture. C'est ainsi que les digitales, issues de graines du Jardin Botanique et cultivées sur terre des Vosges, offraient un développement beaucoup plus faible que les digitales cultivées sur Terre Uniforme; les feuilles, de petite taille, formaient une rosette peu importante.

Sur sol artificiel (Terre Uniforme), une différence très nette s'observait dans l'aspect des digitales obtenues à partir des graines de deux origines différentes, les digitales d'origine vosgienne présentant un retard très net de la croissance en comparaison de celles obtenues à partir des graines récoltées au Jardin Botanique.

C'est la raison pour laquelle, dans nos essais de maintien en survie pendant la saison froide, avons-nous seulement utilisé les digitales issues des graines récoltées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy et cultivées sur Terre Uniforme.

Au début du mois d'octobre, les plants subissent un nouveau repotage dans des pots de 16 cm de diamètre. Toutes les digitales présentent alors sensiblement le même aspect, à savoir qu'elles sont composées d'une douzaine de feuilles très vigoureuses, les plus basses et extérieures mesurant environ 15 cm de longueur. Les pots ont été répartis en différents lots, placés dans des conditions diverses de température :

Premier lot : les pots sont laissés sur une terrasse, en plein air. Pour empêcher un refroidissement trop rapide, ils sont entourés séparément d'une couche d'ouate et placés dans une caisse. Tant que la température n'est pas inférieure à 3° C, on les soumet à un arrosage, mais peu abondant, l'évaporation étant minime. Jusqu'au 15 décembre, la température n'ayant jamais été inférieure à 0°, les digitales possèdent des feuilles bien vertes, leur développement paraît cependant stoppé. A partir de cette date, des gelées assez fortes provoquent le brunissement des feuilles qui peu à peu se dessèchent et se détachent; au mois de février, toute la partie aérienne de la plante a disparu.

Deuxième lot : les pots sont placés dans une serre dont la température moyenne est de 16° C. Pendant un mois, jusqu'à mi-novembre, des feuilles continuent à se développer au centre de la rosette; par contre, les feuilles extérieures subissent des altérations qui s'accroissent de plus en plus et le dessèchement a atteint toutes les feuilles, à la fin du mois de janvier.

Au printemps de la deuxième année, l'un et l'autre lot ne présentent plus aucun signe de vie.

Troisième lot : les pots sont abandonnés dans le Jardin attenant aux Serres de la Ville de Nancy. Placés dans une rigole en ciment, à l'abri d'un mur orienté à l'ouest, ils sont soumis à toutes les conditions atmosphériques, y compris les précipitations. Ces digitales vont perdre, elles aussi, les feuilles périphériques, mais, au centre de la rosette, il persiste toujours des petites feuilles vertes dont la croissance est stoppée mais qui manifestent au cours de l'hiver une vie végétative. Dès le début du printemps (fin du mois de mars), on observe très nettement une reprise de la croissance de la plante. Ces digitales soumises, sans aucune précaution, à toutes les conditions atmosphériques de l'hiver présentent un cycle végétatif naturel et normal.

Les différentes techniques de stockage et leur résultat sont schématisés dans le tableau ci-après.

Numéro des lots	Stockage	Evolution		Analyse de rhizosphère (20 janvier)
		Hiver	Printemps	
1	Plein air	Chute des parties aériennes	Mort	+
2	Serre 16° C	Chute des parties aériennes	Mort	+
3	Plein air A l'abri	Chute des feuilles périphériques Persistance des feuilles centrales de la rosette	Reprise * de la croissance	+

Le 20 janvier, des analyses de la rhizosphère sont faites sur les plants de chacun de ces trois lots et elles sont menées suivant le protocole décrit dans les préliminaires de ce travail.

a) *Résultats.*

Les résultats des caractères microbiologiques et des effets rhizosphère sont groupés dans les tableaux suivants :

— Tableau XXXVIII : pour l'analyse du plant appartenant au premier lot placé sur la terrasse.

— Tableau XXXIX : pour l'analyse de la digitale appartenant au deuxième lot placé à la serre.

— Tableau XL : pour l'analyse de la digitale appartenant au troisième lot placé au Jardin des Serres.

— Tableau XLI : comparaison des différents résultats des lots 1, 2, 3 à ceux d'une digitale « in situ » à stade de développement identique à la même saison.

TABLEAU XXXVIII

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. cultivée sur Terre Uniforme

(1^{er} lot : séjour sur terrasse pendant l'hiver)

	Microflore totale	Champignons	N										C			S	
			Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amylolyse	Cellulolyse			
			Aérobiose	Anaérobiose	5	15	5	15	DM	DM	DM	DM		DM	DM		Aérobiose
			G/gr	G/gr	G/gr	G/gr	G/gr	G/gr	In	In	In	In	DM	DM	G/gr		G/gr
JOURS	14	7	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	15
			G/gr	G/gr	DM	DM	DM	DM	In	In	DM	DM	DM	DM	G/gr	G/gr	G/gr
Sol témoin	1 700 000	7 400	0	100	10 ^{-1,8}	10 ^{-2,8}	10 ⁻⁵	10 ^{-5,7}	3	2,5	10 ^{-0,7}	10 ⁻⁴	10 ^{-0,7}	10 ^{-1,7}	0	95 000	0
Rhizosphère éloignée	3 850 000	87 700	11	110	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,5}	10 ^{-6,6}	10 ^{-6,8}	0,7	1,8	10 ^{-5,7}	10 ^{-6,6}	10 ^{-0,4}	10 ^{-3,3}	0	495 000	55
Rhizosphère proche	840 000 000	1 819 200	120	600	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ^{-8,4}	10 ^{-8,9}	4,7	3,8	10 ⁻⁵	10 ^{-7,7}	10 ^{-1,5}	10 ^{-2,2}	0	11400000	98
			R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ In	≠ In	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S	R/S	R/S
JOURS	14	7	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	5	15	14	14	15
Rhizosphère éloignée	2,2	11,8	11	1,1	-0,4	-0,3	1,6	1,1	-2,3	-0,7	5	2,6	-0,3	1,6	0	5,2	55
Rhizosphère proche	494	245	120	6	1,2	2,2	3,4	3,2	1,7	1,3	4,3	3,7	0,8	0,5	0	120	98
			Caractères microbiologiques										Effet rhizosphère				

TABLEAU XXXIX

Effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. cultivée sur Terre Uniforme
(2^{ème} lot : séjour en serre pendant l'hiver)

	Microflore totale	Champignons	N						C				S			
			Fixation N		Protéolyse	Ammonification		Nitrification		Dénitrification	Amylolyse	Cellulolyse				
			Aérobiose	Anaérobiose		5	15	14	14			5		15	14	14
JOURS	14	7	14	14	5	15	14	14	5	15	14	14	15	15		
	G/gr	C/gr	G/gr	G/gr	DM	DM	DM	In	DM	DM	G/gr	G/gr	G/gr	G/gr		
Sol témoin	1 700 000	16 600	26	160	10 ⁻²	10 ^{-4,5}	10 ^{-5,5}	10 ^{-6,3}	10 ⁻¹	10 ^{-4,8}	10 ^{-1,2}	0	450 000	0		
Rhizosphère éloignée	770 000	33 600	11	770	10 ^{-1,9}	10 ^{-4,1}	10 ^{-4,8}	10 ^{-6,6}	0,7	1,6	10 ^{-2,2}	10 ^{-5,3}	10 ^{-1,3}	3		
Rhizosphère proche	840 000 000	604 800	40	8 400	10 ^{-2,9}	10 ^{-5,5}	10 ^{-7,3}	10 ^{-8,6}	5	5	10 ^{-3,1}	10 ^{-7,7}	10 ^{-2,9}	0		
	R/S	R/S	R/S	R/S	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	≠ In	≠ In	≠ Ex	≠ Ex	≠ Ex	R/S		
JOURS	14	7	14	14	5	15	5	15	14	14	5	15	14	15		
Rhizosphère éloignée	0.45	2.02	0.42	4	-0,1	-0,4	-0,7	0,3	-2,9	-2	1,2	0,5	0,1	1,3		
Rhizosphère proche	494	36,4	1,5	52,5	0,9	1	1,8	2,3	1,4	1,4	2,1	2,9	1,7	0		
Caractères microbiologiques			25,2													
Effet rhizosphère			600													

b) *Discussion.*

De l'examen des tableaux XXXVIII, XXXIX, XL et XLI, les observations suivantes peuvent être dégagées :

1) Si on compare les résultats des trois échantillons témoin de Terre Uniforme, placés dans des conditions différentes, on remarque que le nombre de germes par gramme de terre est identique dans les trois cas. Par contre, la microflore fongique a des valeurs inégales : par rapport à celle du témoin du Jardin des Serres de la Ville, elle est deux fois plus abondante pour le témoin laissé sur la terrasse et quatre fois plus pour celui conservé à la Serre. Quant aux diverses activités fonctionnelles, elles sont assez comparables, à l'exception du groupe des germes de la nitrification qui est absent dans le témoin placé au Jardin des Serres, qui, par contre, renferme des micro-organismes responsables de la sulfato-réduction. Les germes du genre *Azotobacter* ne sont présents que dans l'échantillon conservé à la Serre.

2) Les résultats du rapport R/S de ces trois digitales conservées dans des conditions différentes pendant la saison froide, démontrent que l'effet rhizosphère des plantes du premier et du deuxième lot (digitales placées sur la terrasse et dans la Serre) qui présentent tous les signes de dépérissement, s'exerce encore vis-à-vis de tous les groupements morphologiques ou fonctionnels des micro-organismes telluriques, mais il est nettement plus marqué pour la plante abandonnée aux conditions naturelles et qui, tout au cours de l'hiver, a manifesté sa survie. Il est à noter que dans la rhizosphère proche, on a un effet stimulant plus ou moins important, alors que dans la rhizosphère éloignée l'effet est très faible, nul ou même inhibiteur.

3) Si on compare les résultats des effets rhizosphère de ces trois digitales en culture sur Terre Uniforme et placées dans différentes conditions pendant l'hiver, à ceux d'une digitale se développant spontanément dans la Vallée de la Plaine et prélevée à la même époque, on remarque que l'influence de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. dans son habitat naturel, est en général beaucoup plus faible vis-à-vis de tous les groupements morphologiques et fonctionnels des micro-organismes telluriques.

2° Recherche de moyens susceptibles d'accélérer la croissance de digitales en culture.

La digitale étant une plante bisannuelle, elle manifeste un besoin absolu de vernalisation. En l'absence de toute donnée concernant cette plante, nous avons cependant tenté, par des moyens assez simples, de

« forcer » le développement des plantes, en culture expérimentale, en étudiant l'action du froid suivie de celle de la lumière artificielle et de la température. Le froid a été assuré par un séjour dans une chambre frigorifique dont la température est réglée entre 0° et 1° C. L'éclairage artificiel a été réalisé au moyen d'un tube fluorescent, modèle T.L. Philips de 40 W, utilisé pour les caisses de germination, mesurant 1,20 mètre de longueur et placé à 0,45 mètre au-dessus des plantes; la chaleur dégagée par ce tube lumineux est insignifiante et n'interfère donc pas avec la température de la serre qui était de 16°-18° C. L'éclairage artificiel a pour but de prolonger la durée du jour afin d'obtenir l'effet de journées longues (16 heures).

Nos essais de « forçage » ont porté, d'une part, sur des graines, pour essayer de provoquer la germination à contre-saison et, d'autre part, sur des plantes de première année, pour tenter d'accélérer la formation de la hampe florale.

a) *Essais de « forçage » sur les graines.*

Les essais ont été faits simultanément sur les graines de digitales pourprées récoltées dans les Vosges et sur celles récoltées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy. Les graines de l'une et l'autre origine sont divisées en trois lots :

Premier lot : les graines sont abandonnées pendant 15 jours à + 1° C, puis les semis, réalisés après ce traitement par le froid, sont placés sous le dispositif d'éclairage artificiel.

Deuxième lot : les graines sont ensemençées, sans traitement préalable par le froid et sont placées dans les conditions d'éclairage artificiel.

Troisième lot : les graines sont ensemençées, sans traitement préalable par le froid et les semis non soumis à l'éclairage artificiel sont placés simplement à la température des deux autres lots.

Les ensemençements ont été réalisés pour chacun des trois lots simultanément sur terre des Vosges et Terre Uniforme dans des petites coupelles de terre cuite, à raison de 100 graines par coupelle. Chaque jour, un arrosage rationnel permet à la terre de conserver un degré d'humidité suffisant pour assurer la germination des graines.

Résultats.

Le neuvième jour après la mise en culture, on voit apparaître de nombreuses petites plantules sur les semis réalisés sur la terre des

Vosges soumis à l'éclairage artificiel, quelle que soit l'origine des graines, avec ou sans traitement préalable par le froid (1° et 2° lots).

Sur Terre Uniforme, il y a, comme nous l'avons déjà constaté précédemment, un retard de 2 jours dans la germination; mais ce retard ne se manifeste que très peu de temps, car dès le treizième jour, le nombre de plantules et leur aspect sont identiques pour les semis effectués sur les deux substrats différents et placés sous l'éclairage artificiel, les graines ayant été soumises ou non à l'action du froid. Le pourcentage de germination est en moyenne de 60 %.

Quant aux graines non soumises aux traitements successifs du froid et de l'éclairage artificiel (troisième lot), leur germination n'apparaît que le quinzième jour et le pourcentage est très faible, de l'ordre de 30 à 35 %.

Les pourcentages de germination, en fonction des divers traitements, sont groupés dans le tableau ci-après :

Numéro des lots	Traitements			Germination			
	Froid (15 jours à 1° C)	Eclairage (jours de 16 h)	Chaleur (16-18° C)	Terre des Vosges		Terre Uniforme	
				Graines Vosges	Graines Jardin Botanique	Graines Vosges	Graines Jardin Botanique
1	+	+	+	+	+	+	+
				63 %	50 %	66 %	65 %
2	0	+	+	+	+	+	+
				56 %	54 %	60 %	64 %
3	0	0	+	+	+	+	+
				28 %	34 %	34 %	39 %

Si l'on compare les pourcentages de germination des graines de digitales de ces essais, entrepris au mois de novembre, avec les résultats de printemps étudiés précédemment, il apparaît que les différents traitements ont tout de même amélioré ce pourcentage.

Malheureusement, et quels que soient le traitement choisi, l'origine de la graine et le substrat de culture utilisé, les semis présentent un arrêt dans leur développement dès le dix-huitième jour; ces plantules restent stationnaires pendant trois mois environ; après quoi leur nombre diminue peu à peu et seules quelques-unes végètent sans présenter une croissance intéressante. Cet échec est sans doute dû à un mauvais conditionnement des différents traitements.

b) *Essais de « forçage » sur les plants de première année.*

Les essais ont porté sur des digitales issues de graines récoltées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy et cultivées sur Terre Uniforme. Les plants ont été successivement rempotés au cours de l'été et en automne; ils présentent une belle rosette de feuilles bien vigoureuses. Au milieu du mois d'octobre, dans la crainte des premières gelées nocturnes, les digitales sont alors séparées en plusieurs lots pour être soumis à des essais de « forçage ».

Premier lot : les plantes sont placées pendant 15 jours à $+ 1^{\circ}$ C, ne subissant aucun arrosage pendant ce traitement par le froid; ensuite elles sont soumises à l'éclairage artificiel dans le but d'obtenir des « journées longues » (16 heures).

Deuxième lot : les plantes, non soumises au froid, sont placées dans le dispositif d'éclairage artificiel.

Troisième lot : les plantes ne subissent aucun traitement de froid et d'éclairage artificiel, mais sont simplement placées à la température des deux autres lots.

Les plants de ces différents lots reçoivent un arrosage suffisant, conditionné par l'évaporation.

Résultats :

Le premier lot de plantes, après traitement par le froid, présente des feuilles à aspect flasque mais qui reprennent leur port normal dans les premières heures qui suivent leur mise en place dans le dispositif d'éclairage artificiel.

Les plants des deux premiers lots présentent alors une prolongation dans le développement de petites feuilles au centre de la rosette pendant un mois (mois de novembre); puis les feuilles périphériques manifestent des signes d'altération qui s'intensifient et gagnent peu à peu tout le système foliaire. Ainsi, on assiste à un dessèchement total de la plante à la fin du mois de janvier. Schématiquement les traitements et les résultats de ces essais s'établissent comme suit :

Numéro des lots	Traitements			Survie
	Froid (15 jours à 1° C)	Eclairage (jours de 16 h)	Chaleur (16 - 18° C)	
1	+	+	+	0
2	0	+	+	0
3	0	0	+	0

Les signes de dégénérescence sont apparus, par contre, plus prématurément chez les digitales n'ayant été soumises à aucun traitement et aucune reprise temporaire de la croissance n'a été observée. Les arrosages et le traitement par la lumière artificielle ayant été poursuivis pour les deux premiers lots de digitales, aucune reprise du cycle végétatif n'a été observée ultérieurement.

3° Conclusion.

De tous les essais, sans résultat positif, que nous avons entrepris pour maintenir en survie ou pour accélérer le cycle végétatif de digitales pourprées en culture sur sol artificiel, il ressort que le problème est conditionné par de très nombreux facteurs interférant les uns avec les autres et donc très difficiles à reconstituer artificiellement. Seul le lot de digitales abandonné pendant l'hiver dans le Jardin des Serres de la Ville, donc celui qui a été placé dans les conditions les plus écologiques, a permis d'observer un cycle complet. On a pu ainsi poursuivre l'étude microbiologique de la rhizosphère de digitale en culture sur Terre Uniforme, en fonction du stade de croissance. Les résultats de cette étude font l'objet des essais rapportés ci-après.

IV. — ETUDE DE LA RHIZOSPHERE DE *DIGITALIS PURPUREA* L. CULTIVEE SUR SOL ARTIFICIEL ET A DIVERS STADES DE CROISSANCE

L'étude de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. cultivée sur Terre Uniforme a pu être réalisée aux différents stades de croissance de la plante et à peu près aux mêmes époques de l'année que les digitales pourprées se développant spontanément dans les Vosges. Cette étude a été faite sur un lot de digitales n'ayant subi aucun traitement de « forçage ».

A. — CYCLE DE DÉVELOPPEMENT DES DIGITALES

Les graines de digitale pourprée récoltées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy ont été semencées sur Terre Uniforme les premiers jours du mois de mars. Les premières plantules, apparues 11 jours après la mise en terre des graines, sont repiquées, 6 semaines plus tard, dans des pots de 4 cm de diamètre. Placées sur une terrasse extérieure jusqu'au mois d'octobre, elles subissent les variations de température mais, étant à l'abri des précipitations atmosphériques, elles sont arrosées



Digitale de 1^{re} année



Digitale de 2^e année

PLANCHE VI

Digitalis purpurea L. cultivée en terre uniforme.

régulièrement. Le développement de ces plantes a nécessité cinq rempotages successifs au cours de cette période.

Pendant la saison froide, les digitales sont abandonnées, comme il a été dit précédemment, au Jardin des Serres de la Ville, placées dans une petite rigole de ciment, à l'abri d'un mur orienté à l'ouest, et soumises ainsi à toutes les rigueurs atmosphériques. La croissance, qui a été stoppée pendant les mois d'hiver, se manifeste dès la fin du mois de mars, par la formation de nouvelles feuilles, au centre de la rosette des feuilles de première année totalement desséchées. Au début du mois de mai, on voit apparaître une ébauche de hampe florale qui va se développer peu à peu; les premières fleurs s'épanouissent à sa base dès le 10 juin. La floraison se prolonge environ quatre semaines, la hauteur de la tige florifère atteignant 70 cm de hauteur. Par ces dates, on se rend compte que la floraison des digitales cultivées sur sol artificiel est un peu plus précoce que celle des digitales vosgiennes dans leur habitat naturel; il est certain que les gelées se sont moins prolongées que dans la montagne, ceci est certainement une des causes de l'accélération du cycle de deuxième année de croissance. Quant à la récolte des graines, elle a pu être faite dès le début du mois d'août.

B. — DÉTERMINATION DES CARACTÈRES MICROBIOLOGIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DE LA RIZOSPHERE

Pour étudier l'influence du développement de la plante sur la microflore de la rhizosphère, nous avons procédé à des analyses qui ont été effectuées selon le schéma suivant :

- Digitale à la première année de croissance :
 - au mois de mai,
 - au mois de juillet,
 - au mois de septembre,
 - au mois de janvier.
- Digitale à la deuxième année de croissance :
 - au mois d'avril,
 - au moment de la floraison,
 - au moment de la fructification.

La préparation des échantillons de rhizosphères et de sol témoin ainsi que la détermination des caractères microbiologiques et physico-chimiques ont été effectuées selon le protocole décrit au chapitre des techniques.

a) *Résultats.*

Dans ces essais les caractères microbiologiques et l'effet rhizosphère sont exprimés de la même manière qu'au chapitre II, première partie, à propos de l'étude de l'influence des variations saisonnières et du stade de croissance sur la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. se développant spontanément dans la Vallée de la Plaine et la Vallée du Rabodeau. Ces résultats sont rapportés dans les tableaux XLII, XLIII, XLIV, XLV, XLVI, XLVII, XLVIII, et la figure 15.

Les caractères physico-chimiques sont groupés dans le tableau XLIX.

TABLEAU XLIV
Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.
cultivée sur Terre Uniforme, sur l'effet rhizosphère
FIXATION DE L'AZOTE

		1 ^{ère} Année						2 ^{ème} Année									
		Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne			
		G/gr	R/S	G/gr	R/S	C/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S		
Fixation en aérobiose	Sol témoin	26		0		4		0				4		27		0	
	Rhizosphère éloignée	29	1,1	30	30	0	0	565	565			10	2,5	0	0	0	0
	Rhizosphère proche	600	23	77	77	10 000	2 500	47 500	47 500			60	15	156	55	55	55
Fixation en anaérobiose	Sol témoin	510		73		305		91				510		5 300		6 050	
	Rhizosphère éloignée	1 540	3	58	0,79	270	0,8	1 130	12,4			510	1	375	0,07	850	0,14
	Rhizosphère proche	33 600	65,8	3 740	51	18 000	59	4 750	52,2			1 200	2,3	25 400	4,7	17 600	2,9

TABLEAU XLVII
Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de Digitals purpurea L.
cultivée sur Terre Uniforme, sur l'effet rhizosphère
SULFATO-REDUCTION

	1 ^{ère} Année								2 ^{ème} Année							
	Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne			
	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S	G/gr	R/S		
Sol témoin	51		19		32		51		8		160		108			
Rhizosphère éloignée	55	1	21	1,1	8	0,2	56	1,1	18	2,2	20	0,12	60	0,5		
Rhizosphère proche	108	2,1	55	2,9	180	5,6	28	0,5	60	7,5	186	1,1	210	1,9		

TABLEAU XLVIII

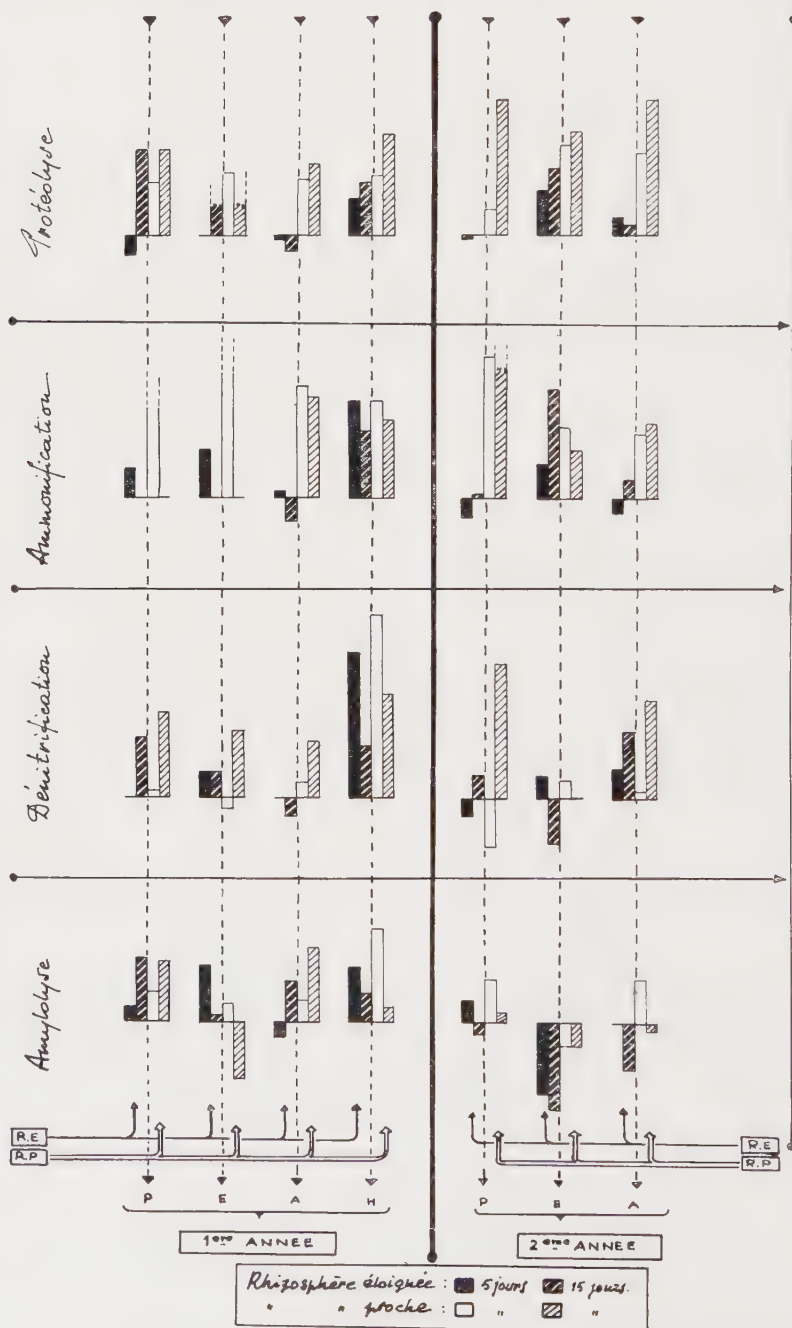
Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.

cultivée sur Terre Uniforme, sur l'effet rhizosphère

PROTEOLYSE . AMMONIFICATION . DENITRIFICATION . AMYLOLYSE

		1 ^{ère} Année								2 ^{ème} Année					
		Printemps		Eté		Automne		Hiver		Printemps		Eté		Automne	
JOURS		5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15	5	15
D.M.	T.	10 ^{-4,1}	10 ^{-4,8}	10 ^{-7,2}	10 ^{-9,2}	10 ^{-2,2}	10 ^{-4,4}	10 ^{-1,4}	10 ^{-2,8}	10 ⁻²	10 ^{-3,6}	10 ⁻²	10 ^{-2,6}	10 ^{-1,6}	10 ^{-3,3}
	R.E.	10 ^{-3,6}	10 ^{-7,1}	10 ^{-7,2}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-2,1}	10 ⁻⁴	10 ^{-2,4}	10 ^{-4,2}	10 ^{-1,9}	10 ^{-3,6}	10 ^{-3,2}	10 ^{-4,4}	10 ^{-2,1}	10 ^{-3,6}
	R.P.	10 ^{-5,5}	10 ^{-7,1}	10 ^{-8,9}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-3,7}	10 ^{-6,3}	10 ⁻³	10 ^{-5,5}	10 ^{-2,7}	10 ^{-7,2}	10 ^{-4,4}	10 ^{-5,4}	10 ^{-3,8}	10 ^{-6,9}
f Ex	R.E.	-0,5	2,3	0	>0,8	-0,1	-0,4	1	1,4	-0,1	0	1,2	1,8	0,5	0,3
	R.P.	1,4	2,3	1,7	>0,8	1,5	1,9	1,6	2,7	0,7	3,6	2,4	2,8	2,2	3,6
D.M.	T.	10 ^{-7,6}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-6,6}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-5,1}	10 ^{-6,5}	10 ^{-5,3}	10 ^{-6,5}	10 ^{-5,8}	10 ^{-6,5}	10 ^{-5,3}	10 ^{-6,7}	10 ^{-6,4}	10 ^{-6,8}
	R.E.	10 ^{-8,4}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-7,9}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-5,3}	10 ^{-5,9}	10 ^{-7,9}	10 ^{-8,3}	10 ^{-5,3}	10 ^{-6,6}	10 ^{-6,2}	10 ^{-9,6}	10 ⁻⁶	10 ^{-7,3}
	R.P.	>10 ⁻¹⁰	>10 ⁻¹⁰	>10 ⁻¹⁰	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-8,1}	10 ^{-9,2}	10 ^{-7,9}	10 ^{-8,6}	10 ^{-9,6}	>10 ⁻¹⁰	10 ^{-7,2}	10 ⁻⁸	10 ^{-8,1}	10 ^{-8,8}
f Ex	R.E.	0,8	0	1,3	0	0,2	-0,6	2,6	1,8	-0,5	0,1	0,9	2,9	-0,4	0,5
	R.P.	>2,4	0	>3,4	0	3	2,7	2,6	2,1	3,8	>3,5	1,9	1,3	1,7	2
D.M.	T.	0	10 ^{-3,9}	10 ^{-1,2}	10 ^{-3,7}	10 ^{-0,2}	10 ^{-4,7}	0	10 ^{-4,8}	10 ^{-2,9}	10 ^{-4,8}	10 ^{-0,5}	10 ^{-6,2}	0	10 ^{-4,4}
	R.E.	0	10 ^{-5,5}	10 ^{-1,9}	10 ^{-4,4}	10 ^{-0,2}	10 ^{-4,3}	10 ^{-3,9}	10 ^{-6,2}	10 ^{-2,4}	10 ^{-5,4}	10 ^{-1,1}	10 ^{-4,8}	10 ^{-0,8}	10 ^{-6,2}
	R.P.	10 ^{-0,2}	10 ^{-6,2}	10 ^{-0,9}	10 ^{-5,5}	10 ^{-0,6}	10 ^{-6,2}	10 ^{-4,9}	10 ^{-7,6}	10 ^{-1,6}	10 ^{-8,4}	10 ⁻¹	10 ^{-6,2}	10 ^{-0,2}	10 ⁻⁷
f Ex	R.E.	0	1,6	0,7	0,7	0	-0,4	3,9	1,4	-0,5	0,6	0,6	-1,2	0,8	1,8
	R.P.	0,2	2,3	-0,3	1,8	0,4	1,5	4,9	2,8	-1,3	3,6	0,5	0	0,2	2,6
D.M.	T.	10 ^{-0,3}	10 ^{-3,9}	10 ⁻¹	10 ^{-5,2}	10 ^{-0,7}	10 ^{-2,2}	0	10 ^{-3,2}	10 ^{-0,4}	10 ^{-2,5}	10 ^{-1,9}	10 ^{-3,2}	10 ⁻¹	10 ⁻⁴
	R.E.	10 ^{-0,7}	10 ^{-5,6}	10 ^{-2,5}	10 ^{-5,4}	10 ^{-0,3}	10 ^{-3,3}	10 ^{-1,5}	10 ⁻⁴	10 ⁻¹	10 ^{-2,2}	0	10 ^{-0,9}	0	10 ^{-2,8}
	R.P.	10 ^{-1,1}	10 ^{-5,5}	10 ^{-1,5}	10 ^{-3,7}	10 ^{-1,3}	10 ^{-4,2}	10 ^{-2,5}	10 ^{-3,6}	10 ^{-1,6}	10 ^{-2,8}	10 ^{-1,3}	10 ^{-2,6}	10 ^{-2,2}	10 ^{-3,8}
f Ex	R.E.	0,4	1,7	1,5	0,2	-0,4	1,1	1,5	0,8	0,6	-0,3	-1,9	-2,3	0	-1,2
	R.P.	0,8	1,6	0,5	-1,5	0,6	2	2,5	0,4	1,2	0,3	-0,6	-0,6	1,2	-0,2

Fig. 15 Représentation graphique des valeurs du tableau XLVIII



TABEAU XLIX

Influence des variations saisonnières et du stade de croissance de *Digitalis purpurea* L.
cultivée sur Terre Uniforme, sur l'effet rhizosphère
CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

		1 ^{ère} Année				2 ^{ème} Année		
		Printemps	Eté	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Automne
pH	Sol témoin	6,25	6,2	7,15	6	7	7,1	7,2
	Rhizosphère éloignée	6,1	6,35	6,7	6,2	7,2	7,09	7,1
Azote gr %	Sol témoin	0,133	0,087	0,104	0,070	0,100	0,171	0,197
	Rhizosphère éloignée	0,080	0,084	0,084	0,118	0,119	0,107	0,070
Carbone gr %	Sol témoin	1,587	0,944	1,089	0,945	1,48	1,548	1,197
	Rhizosphère éloignée	1,881	1,402	1,575	0,867	1,10	1,032	0,921
Rapport C/N	Sol témoin	11,93	10,85	10,47	13,5	14,82	9	6,07
	Rhizosphère éloignée	23,51	16,69	18,75	7,34	9,30	9,6	13,1
Humus gr %	Sol témoin	0,069	0,067	0,091	0,081	0,085	0,144	0,146
	Rhizosphère éloignée	0,099	0,080	0,076	0,099	0,059	0,091	0,102

b) Discussion.

De l'étude de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en fonction de son développement sur Terre Uniforme, il ressort certains faits :

1) La Terre Uniforme analysée en même temps que les échantillons de rhizosphères, a fait l'objet d'une nouvelle étude dynamique en fonction du temps et des traitements (arrosages, variations saisonnières). Les résultats obtenus confirment les conclusions faites à la suite de travaux antérieurs (11) : le pH augmente progressivement et atteint la neutralité, le nombre de micro-organismes tant bactériens que fongiques s'accroît; il en est de même pour la plupart des activités physiologiques et de plus certains groupements qui étaient absents peu de temps après la préparation de ce sol artificiel, font leur apparition plus tardivement et leur taux augmente progressivement (germes de la nitrification, germes de la cellulolyse en aérobiose).

2) De l'examen des différents tableaux donnant les résultats des rapports R/S obtenus avec chacun des groupements microbiens et en tenant compte des divers stades de croissance de *Digitalis purpurea* L. sur Terre Uniforme, on constate que l'effet rhizosphérique dans la zone éloignée est toujours très faible et souvent même inhibiteur. Quant à l'influence de la rhizosphère proche, elle est plus ou moins stimulante suivant le stade de croissance.

— Vis-à-vis de la microflore bactérienne, l'effet est maximum en hiver et minimum au moment de la fructification.

— Vis-à-vis de la microflore fongique, cet effet, qui est beaucoup moins marqué que pour les Bactéries, pour un même stade de développement, est maximum également en hiver et minimum au moment de la floraison et de la fructification.

— Les germes de la fixation de l'azote en aérobiose sont peu nombreux, sauf en hiver où l'effet est maximum, le minimum étant atteint à la floraison. Quant aux germes responsables de la fixation de l'azote en anaérobiose, l'effet est à peu près analogue, maximum au cours de la première année de développement et minimum au cours de la deuxième année.

— La présence des germes nitreux et nitriques a toujours été mise en évidence dans la zone proche de la rhizosphère alors que dans la zone éloignée leur présence est variable. Les effets maximum sont constatés au printemps de la première année de croissance et les minimum au printemps de la deuxième année.

— Dans le cycle du carbone, les germes cellulolytiques aérobies n'apparaissent qu'au cours de la deuxième année du développement :

l'effet est maximum au printemps et minimum à la floraison. Vis-à-vis des germes cellulolytiques anaérobies, la rhizosphère a une action maximum en hiver et minimum au printemps de la première année du développement, l'effet étant faible également au moment de la floraison.

— Dans le cycle du soufre, le nombre des germes sulfato-réducteurs est très faible et l'effet rhizosphérique, peu marqué, est peu significatif.

3) De l'étude dynamique des quatre fonctions protéolyse, ammonification, dénitrification et amylolyse, on peut dégager les faits suivants :

— Vis-à-vis de la flore protéolytique, l'effet est maximum au printemps de la deuxième année de développement et au moment de la fructification.

— Pour la microflore ammonifiante, l'effet atteint son maximum également au printemps de la deuxième année de croissance et il est faiblement stimulant à la floraison.

— Sur la flore dénitrifiante, l'action rhizosphérique est maximum en hiver et très faible à la floraison.

— Il en est de même vis-à-vis des germes amylolytiques, l'effet étant maximum en hiver et inhibiteur au moment de la floraison.

4) De l'examen du tableau groupant les résultats des caractères physico-chimiques, en fonction du stade de développement de la digitale pourprée sur Terre Uniforme, on observe que :

— Le pH des échantillons de rhizosphère éloignée est peu différent de celui du sol témoin correspondant et il tend de plus en plus vers la neutralité au cours de la deuxième année de croissance.

— Les taux d'azote et de carbone sont assez variables, de même que les rapports C/N du sol témoin et de l'échantillon de rhizosphère éloignée.

— Quant à l'humus, le taux est maximum au moment de la fructification.

c) Conclusion.

De l'étude de l'effet rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. en culture sur Terre Uniforme, on peut conclure que :

— l'effet rhizosphère éloignée est très faible, ce qui peut faire penser que même en pot, où la concentration racinaire est très grande,

l'action de la rhizosphère n'est susceptible de s'exercer qu'à une très faible distance des racines.

— l'effet rhizosphère proche est en général minimum ou tout au moins assez faible au moment de la floraison de la digitale, l'effet maximum étant observé en hiver.

— bien que les valeurs exprimant, d'une part, le nombre des micro-organismes des divers groupements morphologiques et fonctionnels et, d'autre part, les effets rhizosphère, soient différentes, les variations obtenues avec *Digitalis purpurea* L. dans son habitat naturel (Vallée de la Plaine) et en culture expérimentale sur sol artificiel (Terre Uniforme) vont dans le même sens.

En résumé, les effets rhizosphère et les caractères microbiologiques de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. dépendent :

— d'une part, du substrat sur lequel la plante croît, car cultivée sur sol vosgien, on retrouve les caractéristiques de la digitale « in situ ».

— d'autre part, de la plante proprement dite, car cultivée sur sol artificiel, les variations sont comparables et parallèles.

TROISIÈME PARTIE

Excrétions radicellaires
chez *Digitalis purpurea* L.
en culture hydroponique

La plante possède, autour de son système radicellaire, une zone particulière, la rhizosphère, où la concentration et l'activité des micro-organismes telluriques sont nettement supérieures à celles observées dans un sol non soumis à l'influence des racines. Si cette microflore rhizosphérique est en partie fonction du substrat sur lequel la plante se développe, elle est également caractéristique de l'espèce végétale: elle est donc conditionnée par celle-ci. L'étude du rôle propre de la plante sur la microflore tellurique a d'ailleurs fait l'objet de nombreux travaux qui ont montré que l'influence de la plante sur l'activité microbiologique de la rhizosphère pouvait être attribuée, en partie tout au moins, aux substances qui sont excrétées par le système radicellaire.

C'est ainsi, par exemple, que RIVIÈRE (90) a pu montrer que des filtrats de culture hydroponique stérile de Blé, ayant atteint le stade du tallage, additionnés à un sol sur lequel cette Graminée se développe bien, réalisent après incubation « une rhizosphère artificielle » possédant les mêmes caractéristiques que celles de la rhizosphère du Blé, cultivé sur cette même terre au même stade de croissance.

Différents travaux ont également montré que l'excrétion d'éléments minéraux par les plantes favorise la prolifération des Bactéries ayant des besoins nutritifs simples, alors que la libération de composés organiques, tels que les acides aminés, permet le développement de germes à pouvoir de synthèse moins développé (116, 59, 60).

De telles études sur le type, le rôle et l'importance des excrétions radicellaires d'une plante donnée, présentent donc, quand on peut les réaliser, un indiscutable intérêt en ce sens qu'elles complètent toutes les autres données ayant pu être acquises dans l'étude de la rhizosphère de l'espèce végétale considérée. C'est dans cet esprit que nous avons, nous aussi, tenté d'étudier, en complément des travaux précédents, le rôle et la nature des excrétions radicellaires de *Digitalis purpurea* L.

Aussi, après avoir défini les conditions optima d'étude des excrétions radicellaires de *Digitalis purpurea* L., avons-nous cherché à caractériser leur action sur la microflore d'un sol sur lequel cette plante se développe spontanément. Comparativement, nous avons enrichi ce même sol à l'aide de différents complexes nutritifs, pour tenter d'apprécier l'action et la nature de ces excrétions radicellaires. Enfin, sur ces sols différemment traités, nous avons réalisé des semis avec des graines de digitale pourprée et observé l'aspect de leur germination dans les divers cas.

CHAPITRE I

MISE EN EVIDENCE DES EXCRETIONS RADICELLAIRES GENERALITES

Les nombreux travaux sur la nature des excréctions radicellaires ont montré qu'il s'agissait, soit de substances minérales, soit de substances organiques. Des études, réalisées à l'aide d'éléments marqués, ne semblent cependant pas démontrer que, dans un sol normal, l'excrétion de substances minérales puisse jouer un rôle dans la rhizosphère (77, 46). Par contre, un grand nombre de substances organiques sont en cause, certaines d'entre elles étant inhibitrices alors que d'autres ont une action stimulante. En général, l'action des racines sur les micro-organismes se traduit cependant par une prolifération bactérienne dans la rhizosphère.

Diverses techniques ont été utilisées pour permettre la mise en évidence de ces composés excrétés par les racines; nous allons les envisager successivement.

1) *Cultures non aseptiques.*

METZ (76), après avoir semé différentes graines sur un milieu minéral gélosé et additionné de dilutions de sol, observa la formation, autour des racines, d'une enveloppe bactérienne présentant des différences quantitatives suivant l'espèce végétale. KATZNELSON, ROUATT et PAYNE (62), faisant des cultures sur du sable imprégné d'une solution minérale ou sur un mélange de sable et de terre, s'aperçoivent que

l'alternance de la dessiccation et de la réhumidification provoque l'excrétion d'acides aminés qui sont décelés par l'analyse chromatographique. Cependant ces essais n'étant pas faits stérilement, il est fort probable que les micro-organismes de la rhizosphère soient responsables de l'élaboration de ces substances. Il est donc indispensable de réaliser des cultures aseptiques.

2) *Cultures aseptiques.*

Les graines sont mises à germer sur un milieu gélosé, puis, après développement de la plantule, les racines sont excisées et l'exsudat recueilli. En utilisant ce mode opératoire, LUNDEGARDH et STENLID (73) mettent en évidence, dans l'exsudat radicellaire du Blé, la présence de glucose, de flavones et de nucléotides. Selon une technique analogue, FRIES et FORSMAN (48) identifient différents composés libérés par les racines de Pois (lysine, arginine, méthionine, uracile, adénine, guanine). Ce procédé ne permet cependant pas d'affirmer que l'on ait seulement recueilli les excréctions radicellaires: l'excision des racines entraîne également la récolte de nombreuses autres substances dans l'exsudat. De plus, l'emploi de milieux gélosés est par trop artificiel et surtout ne laisse pas aux plantes la possibilité d'avoir un développement suffisant.

3) *Cultures aseptiques dans un milieu liquide ou dans du sable imprégné.*

Des graines désinfectées sont mises à germer sur des solutions nutritives, soit à l'aide d'un dispositif tel que la graine ne soit pas immergée, soit sur du sable stérile imprégné de substances minérales indispensables au développement des plantules.

Cette technique qui est la plus couramment utilisée, a permis de déterminer par analyse chromatographique ou par dosage microbiologique (32) les substances existant, soit dans le liquide nutritif, soit dans l'eau de lavage des racines. L'analyse des excréctions radicellaires de nombreuses plantes cultivées dans ces conditions a permis la mise en évidence de substances dont la nature varie avec les espèces végétales (15, 35); les substances les plus fréquemment rencontrées sont des acides aminés et des sucres réducteurs; plus rarement, on trouve des acides organiques, des acides nucléiques et leurs dérivés, ainsi que des facteurs de croissance (14, 64, 97, 35, 15). C'est ainsi que, dans les excréctions radicellaires du Maïs, on a caractérisé de nombreux acides aminés (glutamine, alanine, sérine, valine, acide aspartique.

asparagine, acide glutamique) (56) et des vitamines (biotine, pantothénate, acide nicotinique, thiamine) (109).

Les plantules de Lin en culture hydroponique excrètent également des acides aminés (arginine, acide aspartique, sérine, acide glutamique, glycocolle, alanine), des acides organiques volatils (acide formique, acide acétique, acide butyrique) et des facteurs de croissance (riboflavine, biotine, thiamine, acide pantothénique, acide folique, acide nicotinique) (22). L'étude du liquide de culture aseptique de Blé a permis la caractérisation d'acides organiques (l'acide malique étant en quantité plus importante) d'acides aminés et d'amides (proline, acide glutamique, asparagine, glutamine, alanine, acide α amino-butyrique) et d'oses (glucose, raffinose) (90).

Les excréctions radicellaires ont également été étudiées vis-à-vis des micro-organismes isolés du sol ou de la rhizosphère. MESHKOV et KHODOVKOVA (75) démontrent que la présence des racines de Pois et de Maïs favorise spécifiquement la croissance des Bactéries non sporulées. Au contraire, des excréctions de racines d'Avoine incorporées dans un milieu complexe, auraient une action inhibitrice vis-à-vis des Bactéries isolées de la rhizosphère ou d'un sol témoin (94). Ces résultats paraissent en contradiction avec ceux de ROVIRA (97) qui étudie les excréctions radicellaires de Pois et d'Avoine, après avoir réalisé des cultures aseptiques sur du sable imprégné de solution nutritive : durant les 21 premiers jours de sa croissance, le Pois excrète 22 composés aminés différents, alors que l'Avoine n'en excrète que 14, mais avec du fructose et du glucose en plus. Ces exsudats ont une action stimulante sur la croissance d'espèces bactériennes, cette stimulation étant plus importante vis-à-vis de souches isolées de la rhizosphère que vis-à-vis de souches isolées du sol témoin (98). Il a également été montré que, selon les germes, les exsudats ont une action égale à celle de l'extrait de levure ou même supérieure, c'est-à-dire qu'ils sont encore stimulants en présence de l'extrait de levure. Ils ne peuvent être complètement remplacés ni par le glucose, ni par l'extrait de levure, l'hydrolysate de caséine ou un milieu synthétique très complet renfermant des acides aminés et des facteurs de croissance; ils contiennent donc des substances inconnues. Enfin, additionnés à la terre, les liquides d'excréments radicellaires stimulent la prolifération des Bactéries Gram négatif (99). La stimulation des Bactéries est donc fonction de leur pouvoir de synthèse (72), une forte proportion exigeant des acides aminés, d'autres nécessitant en plus des facteurs de croissance. Certains auteurs pensent que cette stimulation élective serait en rapport avec la sécrétion, par les racines, de quantités importantes d'acides aminés et de facteurs de croissance (115, 117, 63, 100).

CHAPITRE II

CULTURE HYDROPONIQUE DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

La culture stérile en milieu liquide constitue, sans aucun doute, la méthode de choix pour l'étude des substances excrétées par les racines et c'est la culture hydroponique que nous avons utilisée pour obtenir le développement de *Digitalis purpurea* L., en milieu stérile.

A. — TECHNIQUE UTILISÉE

De nombreux travaux ont été faits pour déterminer les éléments indispensables à la croissance des plantes et pour réaliser des « cultures sans sol » (26, 55, 54, 36). Afin de déterminer la solution nutritive la mieux adaptée à la germination de *Digitalis purpurea* L., nous avons, dans des essais préliminaires, placé des graines de digitale pourprée sur les principaux complexes nutritifs mis au point par divers auteurs (HOAGLAND, MAZE, ZINZADZE, KNOP). Ayant obtenu des résultats satisfaisants, tant vis-à-vis de la germination que du développement de la plante avec la solution de KNOP, dont la composition est la plus simple de toutes, c'est cette formule que nous avons retenue pour nos essais.

Pour réaliser des cultures hydroponiques de *Digitalis purpurea* L. nous avons opéré de la façon suivante :

1) Dispositif de culture.

Nous avons utilisé des flacons mélangeurs de KELLER à deux tubulures latérales. Une des ouvertures, permettant l'aération du milieu,

est obturée par un bouchon de caoutchouc, traversé par un tube de verre coudé dont l'extrémité extérieure est bouchée au coton cardé. L'autre tubulure, également obturée au coton cardé, est réservée au prélèvement et au remplacement de la solution nutritive. Les graines de digitale sont de très petite taille (environ 1 mm) et il faut, pour obtenir leur germination, les déposer sur un support qui empêche leur immersion. Dans nos essais, nous avons utilisé des billes de verre, en guise de support et, pour ne pas gêner le développement des radicelles, nous avons introduit, dans chaque flacon, trois couches superposées de billes de verre de tailles différentes : la première, au fond du flacon, est représentée par des billes de 8 mm de diamètre, s'étagant sur 3 cm de hauteur, au-dessus desquelles est disposée une couche de 1 cm de perles de 5 mm de diamètre et enfin, en surface, une épaisseur de 1 cm de billes de 2 mm de diamètre. L'ensemble de ces dispositifs ainsi préparés a été stérilisé à 120° C pendant 30 minutes.

2) *Solution nutritive.*

La solution de KNOP employée a la composition suivante :

Nitrate de potassium	0,25 gr
Nitrate de calcium	1,00 gr
Sulfate de magnésium	0,25 gr
Phosphate monopotassique	0,25 gr
Perchlorure de fer à 26 %	0,05 ml
Solution d'oligo-éléments	1.00 ml
Eau distillée	1000.00 ml

Cette solution, répartie dans des erlenmeyers, à raison de 150 ml, est stérilisée à 115° C pendant 30 minutes. Avec toutes les précautions utiles d'aseptie, elle est introduite dans les flacons mélangeurs de KELLER, préparés et stérilisés, en quantité telle que le liquide affleure la partie supérieure des billes de verre.

3) *Désinfection des graines de digitale.*

Les graines de digitale utilisées pour ces semis artificiels ont été récoltées sur les plants de la Vallée de la Plaine. Elles ont par conséquent la même origine que celles employées pour les cultures expérimentales rapportées dans la deuxième partie de notre travail.

Les graines sont désinfectées par immersion de 10 minutes dans une solution à 2 p. 1.000 de chlorure mercurique dans l'alcool à 70°. Avec

toutes les précautions d'asepsie qui s'imposent, elles sont ensuite débarrassées de toute trace de sublimé par 8 lavages successifs dans l'eau distillée stérile. Un contrôle de stérilité, consistant à placer des graines désinfectées d'un même lot sur un bouillon de haricots gélosé, stérilisé et coulé en boîtes de Pétri, permettait de constater l'absence de tout développement bactérien ou fongique après trois jours d'incubation à 25° C.

4) *Mise en culture des graines.*

Les graines désinfectées sont introduites dans le flacon par la tubulure latérale à l'aide d'une anse de platine. Elles sont déposées au nombre de 8 par flacon à la surface du liquide nutritif sur les petites perles de verre. Il faut, lors de cette opération, éviter toute contamination et aussi l'immersion des graines. Les flacons ainsi ensemencés sont alors maintenus à la température du laboratoire.

5) *Renouvellement de la solution nutritive.*

Toutes les quatre semaines, la solution nutritive de KNOP est prélevée aseptiquement et remplacée par une solution stérile fraîche, de même composition, en quantité telle que toutes les billes de verre soient immergées. Le liquide prélevé est, lui, réparti dans des flacons stériles et placé au congélateur jusqu'au moment de son utilisation.

B. — RÉSULTATS

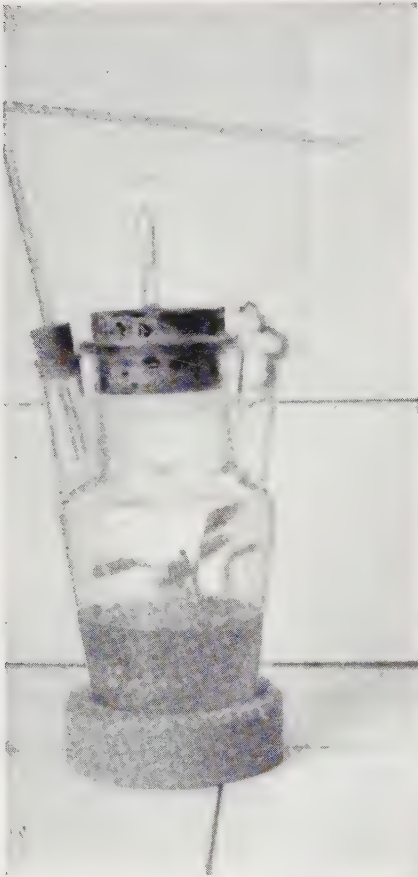
La culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L. permet diverses observations :

— Plusieurs essais de culture stérile ayant été entrepris au cours de l'année, seuls les semis de printemps ont permis de constater le développement de plantules.

— Le pourcentage de germination est assez faible; 12,5 % seulement des graines ensemencées germent, il n'a donc subsisté dans nos essais qu'une seule plantule par flacon.

— La germination apparaît, en moyenne, 20 jours après l'ensemencement. Une tigelle se développe et très rapidement apparaissent les feuilles cotylédonaire.

— Après chaque renouvellement de la solution nutritive, on note une accélération dans le développement de la plantule qui, après 75 jours de culture, mesure 4 à 5 cm de hauteur et possède 8 feuilles.



Culture hydroponique stérile
de *Digitalis purpurea* L

Semis de *Digitalis purpurea* L.
sur sol vosgien enrichi.



PLANCHE VII

— Après 4 mois de culture hydroponique, la petite digitale mesure en moyenne 8 à 10 cm et ses feuilles ont 3 à 4 cm de longueur (Pl. VII).

— Tous les liquides de culture prélevés étaient limpides et n'ont jamais présenté de développement bactérien, ce qui présente un contrôle supplémentaire de la stérilité du milieu.

CHAPITRE III

ETUDE DES EXCRETIONS RADICELLAIRES DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

Ainsi que nous l'avons exposé au chapitre I de cette partie, les cultures hydroponiques représentent le meilleur matériel d'étude des excréctions radicellaires.

Ayant mis au point une technique de culture de la digitale sur milieu de KNOP, nous avons ainsi obtenu un liquide contenant théoriquement les excréctions radicellaires de cette plante. Dans les paragraphes suivants, nous exposerons les procédés que nous avons utilisés pour mettre ces substances en évidence.

I. — ACTION DU LIQUIDE DE CULTURE HYDROPONIQUE DE *DIGITALIS PURPUREA* L. SUR UNE MICROFLORE DONNEE

Afin de déterminer le type d'action que pouvait exercer le liquide de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L. sensé contenir des excréctions radicellaires, sur une microflore tellurique connue, nous avons incorporé ces liquides à un sol vosgien témoin. Pratiquement, nous avons utilisé des liquides de culture de digitales âgées de 4 mois. Ces solutions ont été additionnées à un sol prélevé dans la Vallée de la Plaine et qui avait constitué l'échantillon témoin de notre étude sur la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. « in situ ». La technique utilisée pour cet essai s'est donc établie comme suit :

Le sol témoin des Vosges, ayant été abandonné à la température du laboratoire, présentait une teneur en eau de 1 %. Nous y avons

ajouté les différents liquides à raison de 20 % en poids, ce qui reconstituait un taux d'humidité moyen d'un sol à la saison du printemps. Nous avons réalisé les systèmes suivants :

Premier système : Terre + liquide de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L.

Deuxième système : Echantillons témoin :

- 1) Terre + eau distillée stérile.
- 2) Terre à son état de conservation.

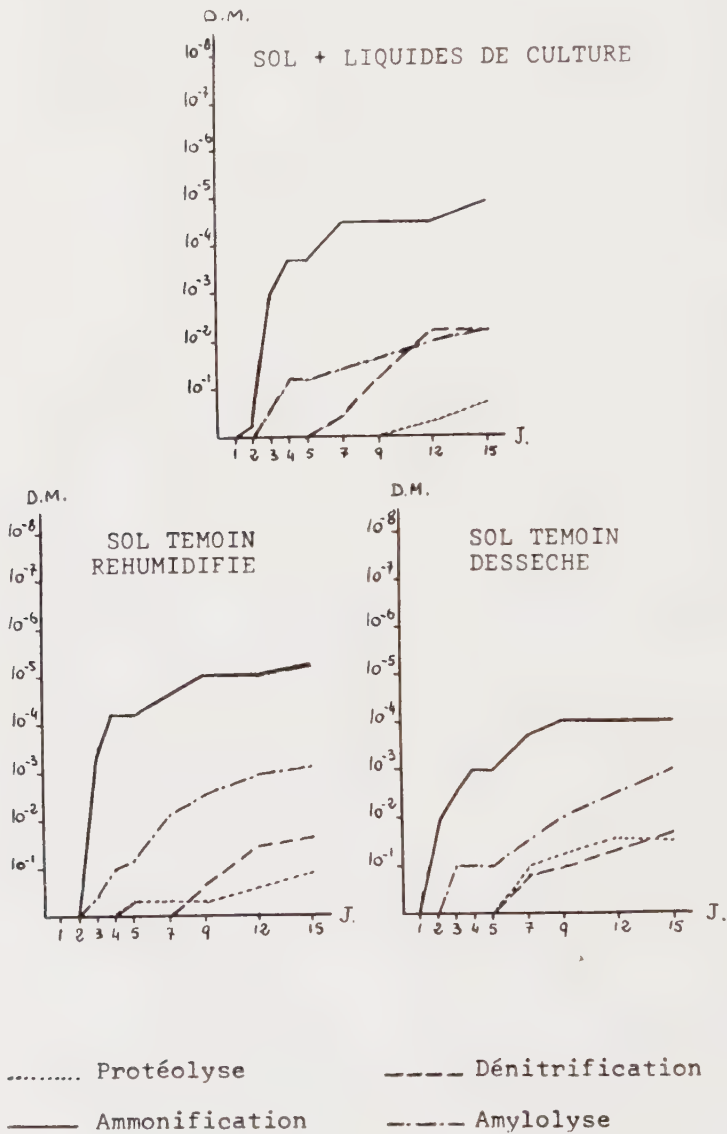
Les divers échantillons sont placés sous une cloche avec un récipient d'eau afin que le taux d'humidité reste sensiblement identique pendant l'incubation qui a été de 15 jours à 28° C.

Nous avons procédé ensuite à la détermination des caractères microbiologiques de chaque échantillon de sol (1^{er}-2^e systèmes) : évaluation de la micropopulation et des diverses activités fonctionnelles selon la technique générale d'analyse d'un sol dont le protocole a été décrit dans les préliminaires de ce travail (p. 13).

a) *Résultats.*

Les résultats de l'analyse du sol traité par le liquide de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L., comparativement aux échantillons de sols témoin, sont rapportés dans le tableau L et la figure 16.

Fig. 16. — Evolution de la microflore d'un sol vosgien après addition de liquides de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L.



b) *Discussion.*

En examinant le tableau L et la figure 16, on observe que la micropopulation du sol enrichi par le liquide de culture de *Digitalis purpurea* L. a une valeur sensiblement double de celle du sol témoin dans les mêmes conditions d'humidité, la différence étant beaucoup moins nette avec le sol non réhumidifié. En ce qui concerne les activités fonctionnelles, on ne note pas de grosses variations entre les divers échantillons, sauf pour les germes responsables de la fixation d'azote en anaérobiose. Dans ce cas, l'addition de liquide aseptique de culture de *Digitalis purpurea* L. provoque une diminution considérable de leur nombre, alors qu'au contraire, on constate la présence, en quantité minime d'ailleurs, de germes cellulolytiques aérobies et une augmentation nette du nombre des germes cellulolytiques se développant en anaérobiose.

II. — ESSAIS DE CARACTERISATION DES EXCRETIONS DE *DIGITALIS PURPUREA* L.

L'addition du liquide de culture de digitales à un sol vosgien témoin ayant, comme il l'a été rapporté au paragraphe précédent, nettement stimulé la microflore de celui-ci, nous avons cherché à déterminer à la présence de quel facteur cette stimulation pouvait être rapportée.

A. — CARACTÉRISATION CHIMIQUE.

Dans ce but, nous avons recherché par diverses techniques (analyses macro et microchimiques, électrophorèse suivie de chromatographie, etc.) les principales substances excrétées en général par les plantes.

Toutes les analyses ont été effectuées sur des liquides de culture hydroponique lyophilisés au moment du prélèvement. Cette technique de concentration n'a fourni qu'un très faible résidu de l'ordre de quelques microgrammes par volume de liquide traité chaque fois (10 ml).

Aucune technique d'analyse mise en œuvre ne nous a permis de caractériser des substances radicellaires définies. C'est ainsi, par exemple, que nous n'avons pu caractériser ni acides aminés, ni sucres réducteurs. Seuls les sels du milieu de KNOP ont pu être retrouvés.

A l'issue de ces essais, il nous faut donc admettre : soit que la digitale n'excrète pas de substances radicellaires particulières, soit que la technique de culture hydroponique utilisée n'a pas été à même de permettre une libération en quantité suffisante de telles excrétions. Il est d'ailleurs reconnu, ainsi que le signale ALEXANDER (4), que la

culture aseptique des plantes en milieu liquide entraîne une diminution du taux des substances excrétées, acides aminés notamment.

B. — CARACTÉRISATION « APPROCHÉE ».

Les différentes analyses chimiques des liquides de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L. ne nous ayant pas permis de caractériser un type donné d'excrétions radicellaires, nous avons tenté d'étudier ce problème par des moyens détournés. On sait que les germes de la rhizosphère présentent un certain nombre de besoins nutritionnels plus ou moins stricts selon les cas. Ces exigences nutritionnelles peuvent être étudiées par la technique de LOCHHEAD et collaborateurs. Nous avons d'ailleurs réalisé une telle étude sur les germes isolés de la rhizosphère « in situ » et les résultats en ont été rapportés.

Partant de ce fait, nous avons pensé qu'en additionnant un sol témoin de différents milieux de LOCHHEAD, on pourrait noter, avec certains de ces milieux, une stimulation, soit de la microflore, soit de l'un ou l'autre groupement fonctionnel. Les résultats d'une telle recherche devraient alors, par comparaison avec les résultats obtenus dans l'analyse de l'influence des extraits radicellaires sur ce même sol, permettre d'avoir une idée du type de substances stimulantes excrétées par la digitale.

C'est donc en fonction de ce raisonnement que nous avons entrepris une série d'essais consistant à traiter des fractions de sol des Vosges par chacun des milieux de LOCHHEAD, dont la composition a été donnée dans la première partie de ce travail (chapitre III), à savoir :

- 1) Terre + milieu B (sels minéraux) ;
- 2) Terre + milieu A (acides aminés) ;
- 3) Terre + milieu G (facteurs de croissance) ;
- 4) Terre + milieu AG (acides aminés + facteurs de croissance) ;
- 5) Terre + milieu Y (extrait de levure) ;
- 6) Terre + milieu S (extrait de sol) ;
- 7) Terre + milieu YS (extrait de levure + extrait de sol).

Les quantités de liquide ajoutées à la terre, les conditions de stockage des sols traités, les techniques d'analyse et l'expression des résultats de cette étude, ont été les mêmes que celles utilisées pour la détermination de l'action des liquides de culture de *Digitalis purpurea* L. sur un sol vosgien témoin (p. 177).

a) Résultats.

Les différents résultats sont groupés dans le tableau LI et les figures 17 et 18.

TABLEAU LI

Evolution de la microflore d'un sol vosgien après
addition de milieux de LOCHHEAD

	Microflore totale	Champignons	N										C		S						
			Fixation N		Protéolyse		Ammonification		Nitrification		Dénitrification		Amylolyse			Cellulolyse					
			Aérobiose	Anaérobiose	DM	5	15	DM	5	15	DM	5	15	DM		5	15	DM	G/2F	Anaérobiose	Aérobiose
JOURS	14	7	G/gr	G/gr	DM	5	15	DM	5	15	DM	5	15	DM	5	15	DM	5	15	G/2F	G/2F
Milieux de LOCHHEAD additionnés au sol témoin	Milieu B	310 000	0	868	10 ^{-1,2}	10 ^{-3,1}	10 ^{-3,3}	10 ^{-5,4}	0	0	0	0	10 ^{-2,3}	10 ^{-1,1}	0	10 ^{-3,3}	0	55	10		
	Milieu A	135 300	0	860	0	10 ^{-1,2}	10 ^{-4,7}	10 ^{-5,5}	0	0	0	0	10 ⁻²	10 ^{-1,4}	0	10 ^{-2,7}	0	11	10		
	Milieu G	562 500	0	875	10 ^{-0,3}	10 ^{-0,6}	10 ^{-4,2}	10 ⁻⁵	0	0	0	0	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,7}	0	10 ^{-3,1}	0	11	10		
	Milieu AG	161 000	0	198	0	10 ^{-0,7}	10 ^{-3,7}	10 ^{-5,8}	0	0	0	0	10 ^{-2,3}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-2,5}	0	55	0		
	Milieu Y	625 000	0	125	0	10 ^{-0,7}	10 ^{-4,2}	10 ⁻⁵	0	0	0	0	10 ^{-2,1}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-3,3}	0	93	22		
	Milieu S	210 800	0	600	10 ^{-0,3}	10 ^{-2,5}	10 ^{-5,4}	10 ^{-5,8}	0	0	0	0	10 ^{-2,9}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-3,1}	0	31	20		
Milieu YS	209 100	123 300	12	320	10 ^{-0,3}	10 ^{-1,2}	10 ^{-4,7}	10 ^{-5,3}	0	0	0	0	10 ^{-2,7}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-2,7}	0	55	7		
Sol témoin réhumidifié	162 500	17 500	0	350	10 ^{-0,3}	10 ^{-0,7}	10 ^{-4,2}	10 ^{-5,2}	0	0	0	0	10 ^{-1,0}	10 ^{-1,2}	0	10 ^{-3,1}	0	11	10		

Fig. 17. — Evolution de la microflore d'un sol vosgien après addition de milieux de LOCHHEAD.

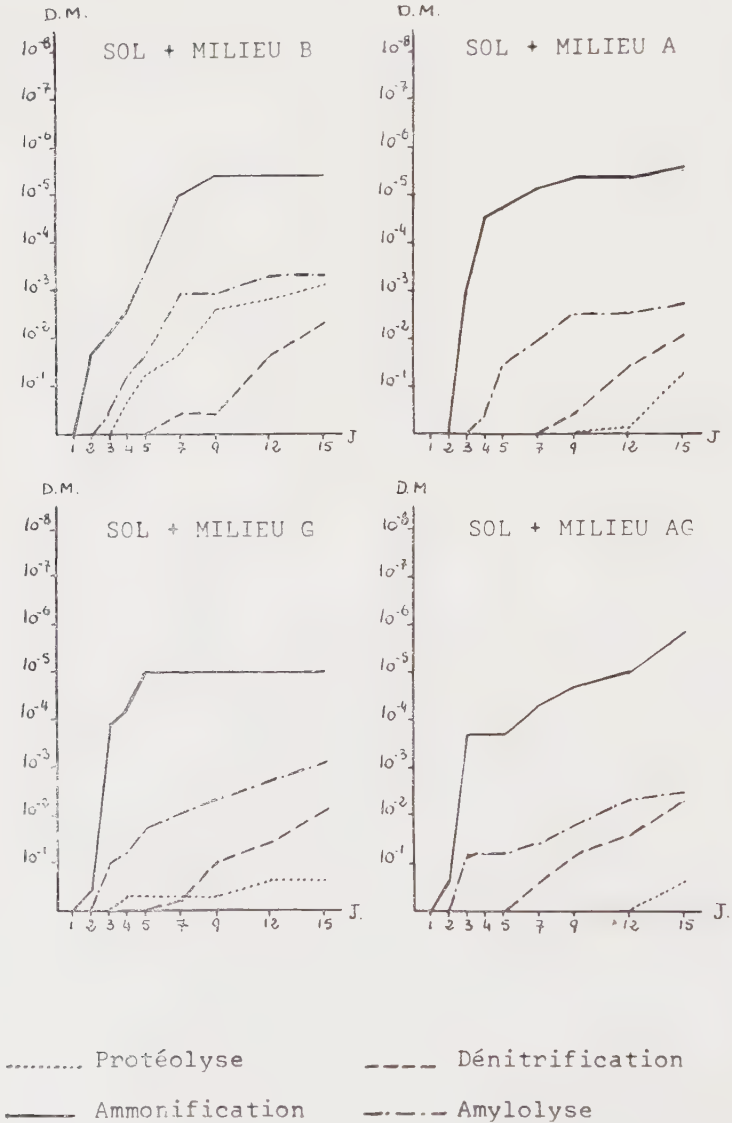
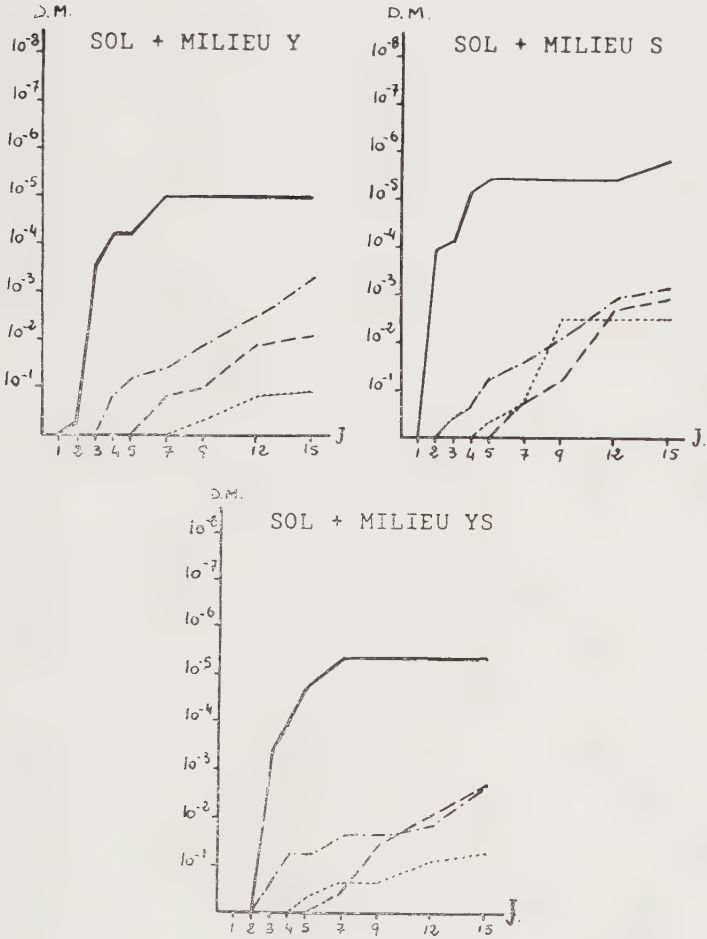


Fig. 18. — Evolution de la microflore d'un sol vosgien après addition de milieux de LOCHHEAD.



..... Protéolyse

---- Dénitrification

— Ammonification

-.-.- Amylolyse

b) *Discussion.*

a) La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus par l'analyse du sol témoin réhumidifié permet de constater :

— une stimulation de la microflore totale du sol témoin réhydraté sous l'influence des milieux B, G, Y, S, YS. Les stimulations les plus importantes ont été observées sous l'action des solutions contenant des sels minéraux (milieu B) ou de l'extrait de levure (milieu Y). Le milieu A (acide saminés) inhibe, par contre, la microflore totale, ce qui se retrouve pour le milieu AG (acides aminés + facteurs de croissance).

— le nombre de Champignons est toujours augmenté par addition des différents milieux de LOCHHEAD au sol témoin réhumidifié.

— à l'égard des différents groupements fonctionnels, on note surtout une stimulation de la fixation de l'azote en anaérobiose, sauf pour les milieux AG et Y. Les activités des autres groupements sont pratiquement peu modifiées par l'addition des milieux de LOCHHEAD, à l'exception de la cellulolyse en anaérobiose augmentée sous l'action des milieux B, AG, Y, S et YS et de la sulfato-réduction, également stimulée, mais seulement pour les milieux Y, S et YS.

Dans l'ensemble c'est surtout le milieu B, soit une addition de sels minéraux, qui stimule les activités microbiologiques du sol témoin.

b) Les résultats de ces essais (tableau LI) comparés avec ceux obtenus dans l'analyse de l'action des liquides de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L. sur le même sol témoin (tableau L), permettent difficilement de ramener la stimulation observée pour ce sol traité, à la présence d'un groupe donné de substances organiques. On constate néanmoins que des stimulations analogues à celles observées avec le sol traité par les liquides de culture hydroponique, se retrouvent pour le même sol traité par les milieux de LOCHHEAD A, AG et Y (cellulolyse en anaérobiose et sulfato-réduction). Il en est de même pour certaines diminutions d'activités fonctionnelles (fixation de l'azote en anaérobiose, protéolyse) qui peuvent être placées en parallèle. On peut donc, *a priori*, supposer que ces variations pourraient, dans le cas des liquides de culture de digitales, être attribuées à la présence, probablement en quantité très faible, d'acides aminés et de substances voisines de l'extrait de levure.

III. — ACTION DES EXCRETIONS RADICELLAIRES DE *DIGITALIS PURPUREA* L. SUR LE POUVOIR GERMINATIF. COMPARAISON AVEC D'AUTRES COMPLEXES NUTRITIFS.

Les essais de traitement d'un sol vosgien, soit par des liquides de culture hydroponique de *Digitalis purpurea* L., soit par les solutions nutritives de LOCHHEAD, et l'analyse microbiologique pratiquée à la suite de ces traitements, nous ont permis de constater, selon les cas, des stimulations ou des inhibitions des germes telluriques. Il nous a paru intéressant de connaître le résultat de ces traitements sur le pouvoir germinatif de la graine de digitale, en culture expérimentale.

Dans ce but, les sols enrichis par le liquide de culture aseptique de *Digitalis purpurea* L. et par différents milieux de LOCHHEAD, ainsi que les échantillons témoin dont les caractéristiques microbiologiques ont été déterminées précédemment, sont, immédiatement après un séjour de 15 jours à 28° C, ensemencés avec des graines de digitale pourprée. Pour cela, les différents sols traités sont répartis respectivement dans des petites coupelles de terre cuite. En surface des sols ainsi traités, on dépose 100 graines de *Digitalis purpurea* L.; ces graines d'origine vosgienne ont été récoltées sur les plants spontanés de la Vallée de la Plaine. Les semis sont ensuite placés dans un endroit bien éclairé, du laboratoire, à température ambiante. Ils sont arrosés chaque jour avec une quantité d'eau identique pour chaque coupelle. Les précautions que nous avons indiquées au chapitre I, deuxième partie, à propos de l'arrosage des cultures expérimentales, ont également été respectées ici.

a) Résultats.

Les premières petites plantules apparaissent 10 jours après l'ensemencement sur le sol enrichi avec des acides aminés (terre + milieu A). 24 heures plus tard, on observe la germination de quelques graines sur les échantillons témoin et sur les sols enrichis différemment.

Un premier dénombrement des plantules est réalisé après 3 semaines de culture et un deuxième 7 semaines après l'ensemencement. Les pourcentages de graines germées, en fonction des différents sols et du temps, font l'objet du tableau LII.

Le cliché photographique (Pl. VII) représentant des semis de *Digitalis purpurea* L. âgés de 10 semaines, sur les sols ayant reçu des traitements divers, illustre les différences de pourcentage de germination et de croissance des plantules.

TABLEAU LII

Pourcentage de germination des graines de *Digitalis purpurea* L.
sur sols enrichis

		Pourcentage de germination		Importance du développement végétal (7 semaines)
		Culture de 3 semaines	Culture de 7 semaines	
1 ^e système	Sol + liquide de culture stérile de <i>Digitalis purpurea</i> L.	4	15	-
2 ^e système	Sol + eau distillée T ₁	4	7	-
	Sol desséché T ₂	2	6	+
3 ^e système	Sol + milieu B	40	55	++
	Sol + milieu A	65	62	+++
	Sol + milieu C	1	1	-
	Sol + milieu AG	16	18	+
	Sol + milieu Y	59	55	++
	Sol + milieu S	4	12	+
	Sol + milieu YS	34	31	++

Importance du développement végétal

- plantules de 3 cm de hauteur : +
- plantules de 5 cm de hauteur : ++
- plantules de 7 cm de hauteur : +++

b) Discussion.

Il est à noter que, si lors de l'établissement du premier pourcentage, les plantules sont de taille sensiblement identique, des différences très marquées sont par contre observables, 7 semaines après l'ensemencement, lors du deuxième dénombrement. Le semis sur sol enrichi avec le milieu renfermant des acides aminés (terre + milieu A) présente des plantules vigoureuses, possédant 8 petites feuilles. Les sols enrichis soit avec des sels minéraux (terre + milieu B), soit avec l'extrait de levure (terre + milieu Y), soit avec des extraits de levure et de sol (terre + milieu YS), ont permis le développement de digitales possédant 6 petites feuilles. En fonction de ces trois traitements, la taille des jeunes plantes est identique. Enfin, les plantules se développant soit sur les sols témoin, soit sur les sols enrichis avec l'extrait de sol (terre + milieu S) ou avec des acides aminés et des facteurs de croissance (terre + milieu AG), soit sur sol enrichi avec le liquide de culture de *Digitalis purpurea* L., présentent un aspect peu vigoureux.

En examinant le tableau LII on remarque que, pour les semis présentant un retard dans la croissance, le nombre des plantes a augmenté entre le premier et le deuxième dénombrement, alors que pour les autres semis, on note une légère diminution par suite du dépérissement des plantules lors de l'établissement du deuxième pourcentage. Comme on l'a signalé antérieurement (deuxième partie, chapitre I), les graines de digitale pourprée ont un pouvoir germinatif très faible sur les échantillons témoin de terre, constituant cependant le sol sur lequel cette plante se développe spontanément dans la Vallée de la Plaine.

Les meilleures germinations et développements sont donc obtenus, dans un ordre décroissant, sur les sols additionnés de milieu A, puis Y, B et YS.

IV. — CONCLUSION

L'ensemble des essais de ce chapitre mettent surtout en évidence le rôle particulièrement stimulant des sels minéraux à l'égard de la microflore autochtone. Des substances organiques, telles qu'acides aminés et facteurs contenus dans l'extrait de levure, ont des actions variables, tantôt stimulantes, tantôt inhibitrices selon les groupements fonctionnels. En fonction de la germination, cependant, ces substances s'avèrent favorisantes. Ces résultats semblent à même de pouvoir éclairer la biologie du développement de la digitale « in situ » et nous esquisserons, dans les conclusions générales, une hypothèse basée sur ces observations.

CONCLUSIONS

Ce travail est consacré à l'étude microbiologique de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. En entreprenant ces recherches, il nous a semblé qu'elles pouvaient démontrer l'importance d'un facteur d'action souvent négligé dans les essais de culture artificielle des plantes médicinales : celui du sol sous son angle microbiologique. Nous pensons, en effet, que l'obtention de bons résultats dans l'adaptation d'une plante à des conditions souvent différentes de celles où elle croît spontanément, est directement liée au respect d'un équilibre défini des micro-organismes telluriques.

La biologie assez complexe de la digitale, la proximité des Vosges où celle-ci croît spontanément, l'intérêt qu'elle présente dans l'industrie pharmaceutique, ont été, pour nous, autant de raisons de retenir cette plante pour notre travail expérimental.

L'exposé de nos essais est présenté selon un plan qui nous paraît devoir être celui à adopter pour toute étude de ce genre, quelle que soit la plante médicinale considérée. Nous avons ainsi envisagé successivement les caractères microbiologiques et physico-chimiques sommaires de quelques sols vosgiens permettant la croissance spontanée de la digitale pourprée, l'influence du développement de cette plante sur les micro-organismes de la rhizosphère « in situ ». Ces mêmes investigations ont été menées sur des plantes issues de graines d'origines diverses, cultivées sur un sol artificiel, dont nous avons fait une étude approfondie. Enfin, nous avons abordé le problème des excréctions radiculaires et essayé de dégager quelques faits à ce propos.

Les principaux résultats obtenus au cours de ce travail peuvent, en suivant le plan adopté, être résumés de la manière suivante.

ETUDE MICROBIOLOGIQUE DE LA RHIZOSPHERE DE *Digitalis purpurea* L.

« IN SITU »

L'étude des terrains envisagés, permettant la croissance de la digitale pourprée, montre qu'il s'agit toujours de sols acides (pH 4.5), à rapport C/N très bas (de 3 à 7.4), à faible teneur en humus. Du point de vue microbiologique, ces sols sont caractérisés par une microflore peu abondante où les Champignons apparaissent proportionnellement assez nombreux, et par une activité réduite pour tous les groupements fonctionnels des cycles de l'azote et du carbone; les germes fixateurs d'azote

aérobies, nitrificateurs et cellulolytiques aérobies sont pratiquement absents. Ces résultats, confirmant ceux obtenus par POCHON et DUCHAUFOUR (82, 40), placent ces terrains vosgiens dans le groupement des sols forestiers caractérisés par la présence des Conifères, le Mor étant le type d'humus et le Podzol le type de profil pédologique (84).

L'effet rhizosphère déterminé par la digitale, au moment de la floraison, sur ces sols, se traduit par une nette stimulation des différents groupements morphologiques et fonctionnels. Cet effet est surtout important dans la rhizosphère proche; il est faible, voire négatif, dans la rhizosphère éloignée. Comme l'ont constaté POCHON et de BARJAC (83) à propos de la rhizosphère du Maïs, nous avons également retrouvé un effet rhizosphère maximum pour les sols les plus pauvres en micro-organismes et vice-versa.

L'étude des effets rhizosphère de la digitale a également été faite en fonction du stade de croissance de cette plante bisannuelle et des saisons. Les résultats se sont avérés variables selon les lieux de prélèvements. Pour les sols riches en micro-organismes, le rapport R/S de la microflore totale est maximum, en rhizosphère proche, au printemps de la première année de croissance, alors que ce maximum se place, pour les sols pauvres, au moment du printemps de deuxième année et se maintient jusqu'à la floraison. L'effet rhizosphère sur les différents groupements fonctionnels est, lui, beaucoup plus fluctuant, mais surtout net, en sol pauvre, à la floraison.

Une étude des affinités tinctoriales des germes de la rhizosphère de la digitale a également été entreprise. Ces analyses ont plus spécialement porté sur des prélèvements provenant d'un sol riche qui présentait un développement plus abondant de digitales spontanées. En ce qui concerne les affinités tinctoriales, les résultats obtenus laissent apparaître la prédominance des germes Gram positif dans la rhizosphère, ce qui est en contradiction apparente avec les résultats d'autres chercheurs. Il est à noter cependant que les observations de ces auteurs ont surtout été faites à propos de plantes annuelles.

Le fait saillant, ressortant de l'étude des besoins nutritionnels, tient dans le peu d'exigence que présentent les germes de la rhizosphère de *Digitalis purpurea* L. En effet, la plupart des germes se classent dans le groupe B (milieu uniquement minéral) et ceci pour le printemps de deux années consécutives de développement, saison où l'effet rhizosphère est le plus important.

ÉTUDE MICROBIOLOGIQUE DE LA RHIZOSPHERE DE *Digitalis purpurea* L. EN CULTURE EXPÉRIMENTALE

Le développement de semis de digitale pourprée a été suivi sur différents types de sols, à savoir, d'une part, sur terre des Vosges permettant le développement spontané de cette plante et, d'autre part, sur un sol artificiel original (Terre Uniforme). Ce dernier substrat a fait l'objet de recherches particulières qui ont démontré que ses caractères étaient proches de ceux des terrains vosgiens envisagés dans ce travail.

Il s'est avéré cependant que la Terre Uniforme permettait d'obtenir un important pourcentage de germination et un développement satisfaisant des plantules de *Digitalis purpurea* L., ce qui n'a pas été constaté sur sol vosgien. A ce propos, il est à noter que les graines provenant de digitales vosgiennes ne se développent pas expérimentalement sur sol homologue, alors que des graines acclimatées au Jardin Botanique de la Ville de Nancy parviennent à croître.

Sur les digitales obtenues en culture expérimentale, nous avons procédé à la détermination des effets rhizosphère, et ceci pour un cycle complet de végétation, qui a pu être suivi sur Terre Uniforme. Dans l'ensemble, tous les résultats enregistrés concordent avec les observations faites « in situ ».

Différentes techniques propres, en général, à accélérer la germination ou la croissance des plantes, ont été essayées. Elles se sont soldées par des échecs, probablement parce que nos connaissances actuelles sur la biologie de la digitale retent encore imprécises.

EXCRÉTIIONS RADICELLAIRES CHEZ *Digitalis purpurea* L. EN CULTURE HYDROPONIQUE

Il nous a été possible d'obtenir des développements de digitale en milieu hydroponique stérile (solution nutritive de KNO₃). Des essais de détermination des excrétiions radicellaires ne nous ont pas permis de caractériser des substances particulières. Il nous semble que cela tienne au fait que, d'une part, et ainsi que certains auteurs l'ont fait remarquer, les excrétiions radicellaires sont toujours moins importantes en milieu stérile et que, d'autre part, le pourcentage de germination dans nos cultures était très faible (12 %).

Devant l'insuccès d'une telle caractérisation, nous avons poursuivi nos investigations par l'étude de l'action des liquides de culture hydroponique sur la microflore d'un sol vosgien. Ces essais ont mis en évidence une stimulation de la microflore totale, mais peu de variations des activités fonctionnelles. Nous avons alors tenté de déterminer à quel facteur cette stimulation de la microflore autochtone était à rap-

porter; c'est pourquoi, nous avons analysé le même type de sol enrichi, dans des conditions identiques, avec des solutions nutritives telles que les milieux de LOCHHEAD. Les résultats obtenus ont montré que les meilleures stimulations étaient observables avec le milieu de base (sels minéraux uniquement). Le milieu de KNOP utilisé pour les cultures hydroponiques de digitale et ayant servi à l'enrichissement du sol vosgien, ainsi qu'il l'a été dit plus haut, représente en réalité une solution minérale. Il nous paraît donc que c'est à ce seul fait qu'il convienne de ramener la stimulation observée.

Ces essais ont été complétés par l'étude du pouvoir germinatif de graines de digitale sur les différents types de sols enrichis. Nous avons alors observé une stimulation, dans un ordre décroissant, de la germination et du développement des plantules sur les sols additionnés des milieux A, Y, B et YS de LOCHHEAD. L'addition de liquides de culture hydroponique de digitale ne détermine qu'une faible augmentation du pouvoir germinatif par rapport au sol témoin non traité, l'importance des développements restant par ailleurs sensiblement identique.



Les différents résultats obtenus dans ce travail permettent d'exprimer une hypothèse sur le rôle de la microflore rhizosphérique dans le développement de la digitale. Il nous semble, en effet, qu'il est capital qu'une microflore autochtone assez abondante soit présente pour que la germination puisse se faire dans de bonnes conditions. Or l'apparition d'une telle microflore en sol vosgien est, plus ou moins directement, liée à des interventions humaines. Il est notoire, en effet, que les coupes de bois, les feux de forêts, les bouleversements du terrain, accélèrent la minéralisation de l'humus (37, 38, 39). Celle-ci entraîne une stimulation de la microflore à besoins nutritifs restreints. Toutes les observations concordent pour dire que c'est à la suite de telles perturbations du terrain, que l'on note, dans les Vosges, l'apparition massive de digitales pourprées. De même MASCRE et LEFRANÇOIS (74, 68), dans leurs essais de culture de *Digitalis purpurea* L. obtenaient des rendements convenables à condition d'ajouter au terrain des engrais minéraux. On peut également admettre, nous semble-t-il, que l'éclaircissement du sous-bois, qui favorise le développement de diverses espèces végétales, doit permettre l'enrichissement du terrain en excréments radicellaires diverses, telles qu'acides aminés et substances proches de celles trouvées dans l'extrait de levure. L'augmentation de la teneur en sels du terrain, allant avec un enrichissement en substances de croissance, doit donc logiquement favoriser la germination et le développement des digitales.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — ADATI M. — Untersuchungen über die Rhizosphäre der Pflanzen. *J. Soc. Trop. Agr. (Taiwan)* 1939, 11, 57.
- 2 — AGNIHOKHRUDU V. — State in which Fungi occur in the Rhizosphere. *Naturwissenschaften*, 1955, 42, 515.
- 3 — AGNIHOKHRUDU V. — Aspergilli from soils of South India. *Naturwissenschaften*, 1957, 44, 65.
- 4 — ALEXANDER M. — Introduction to Soil Microbiology. *John Wiley and Sons, Inc. New-York*, 1961.
- 5 — ARTHUR J.-M. et HARVILL E.-K. — Flowering in *Digitalis purpurea* initiated by low temperature and light. *Contrib. of the Boyce Thompson Inst.* 1941, 12 111.
- 6 — BALICKA N. — Activité biologique comparée des rhizosphères du Seigle et de la Vesce, en culture pure ou mixte. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 95, 480.
- 7 — BARTHOLOMEW W.-V. et CLARCK F.-E. — Nitrogen Transformations in soil in relation to the rhizosphere microflora. *Trans. 4th Int. Cong. Soil Sci.*, 1950, 2, 112.
- 8 — BARTON R. — Germination of oospores of *Pythium mamillatum* in response to exudates from living seedlings. *Nature*, 1957, 180, 613.
- 9 — BENE R., GIRARD Th. et BALDO S. — Observation à propos de la rhizosphère de digitale. *Bull. Ass. Dipl. Microb. Fac. Pharm. Nancy*, 1961, 82, 17.
- 10 — BENE R., GIRARD Th. et BALDO S. — Etude microbiologique d'un sol artificiel « La Terre Uniforme Complète » (N. Cézard). *Bull. Ass. Dipl. Microb. Fac. Pharm. Nancy*, 1961, 83, 45.
- 11 — BENE R., GIRARD Th. et BALDO S. — Caractères microbiologiques de la Terre Uniforme. Comparaison avec d'autres sols. *Bull. Soc. Lor. des Sciences*, 1962, 3, 15.
- 12 — BLACHE J. et Coll. — Géographie Lorraine. Publiée sous les auspices de la Société Lorraine des études locales dans l'enseignement public, 2^e éd. *Berger-Levrault Ed.*, Nancy, 1938.
- 13 — BLAISE P. — Ebauches sur la digitale pourprée. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Strasbourg, 1949.
- 14 — BROWN R., ROBINSON E. et JOHNSON A.-W. — The effect of d-xyloctose and certain root exudates in extension growth. *Proc. Roy. Soc. (London)*, 1949, B, 136, 577.
- 15 — CARE M. — Contribution à l'étude des substances excrétées par les racines des végétaux supérieurs. *Thèse Doct. Etat. Pharm. Lille*, 1959.
- 16 — CEZARD N. — Terre Uniforme de rempotage. *Bull. Soc. Hort. Nancy*, avril-juin 1958, 117, 9.
- 17 — CEZARD N. — Terre Uniforme de rempotage. *Rev. Hort. Paris*, 1959, 2230, 2082.

- 18 — CEZARD N. — Terre Uniforme de rempotage et culture en poterie plastique. *Bull. Soc. Hist. Nat. Moselle*, 1960, 38, 193.
- 19 — CHALVIGNAC M.-A. — Effet rhizosphère comparé du lin en culture hydroponique et en terre. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 95, 474.
- 20 — CHALVIGNAC M.-A. — Sur les difficultés rencontrées dans la caractérisation des souches bactériennes telluriques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1960, 99, 459.
- 21 — CHALVIGNAC M.-A. — Sur quelques caractères morpho-physiologiques des Bactéries de la rhizosphère du lin. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102, 763.
- 22 — CHALVIGNAC M.-A. — Etude biochimique des sécrétions radicellaires du lin en culture hydroponique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102, 767.
- 23 — CHOLODNY N. — Über eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. *Arch. Mikrobiol.*, 1930, 1, 620.
- 24 — CHOUARD P. — Expériences de longue durée sur le photopériodisme. *Mém. Soc. Bot. de France*, 1949, 86, 106.
- 25 — CHOUARD P. — Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons. Préparation au forçage. Thermopériodisme. *C.D.U. Paris*, 1951.
- 26 — CHOUARD P. — Culture sans sol. *La Maison Rustique Ed.*, Paris, 1952.
- 27 — CLARK F.-E. — Notes on types of bacteria associated with plant roots. *Trans. Kansas. Acad. Sci.*, 1940, 43, 75.
- 28 — CLARK F.-E. — Soil microorganisms and plant roots. *Adv. Agron.*, 1949, 1, 241.
- 29 — CLARK F.-E. et SMITH D.-H. (in Alexander M.). *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 1949, 14, 199.
- 30 — CODEX MEDICAMENTARIUS GALLICUS. VII^e éd. 1949, 231.
- 31 — COLLEY-SMITH J.-R. et HICKMAN C.-J. — Stimulation of *Sclerotium* germination in *Sclerotium cepivorum* Berk. *Nature*, 1957, 180, 445.
- 32 — COOK F.-D. et LOCHHEAD A.-G. — Growth factor relationships of soil microorganisms as affected by proximity to the plant root. *Canad. J. Microbiol.*, 1959, 5, 323.
- 33 — DASTE Ph. — L'effet rhizosphère chez *Triticum sphaerococcum*. *Rev. Gén. Bot.*, 1950, 57, 685.
- 34 — DASTE Ph. — Recherches sur l'écologie bactérienne dans la rhizosphère de quelques plantes supérieures. *Thèse Doct. Sci. Paris*, 1956.
- 35 — DEHAY C. et CARE M. — Etude de la composition de quelques excréments radicellaires. *C.R. Acad. Sci.* 1957, 244, 230.
- 36 — DEMOLON A. — Croissance des végétaux supérieurs. *Dunod Ed.*, Paris, 1956.
- 37 — DUCHAUFOR Ph. — Humus actif et humus inerte. Recherches expérimentales sur la minéralisation de l'humus. *Ann. Ec. Nat. Eaux et Forêts*, 1953, 13, 403.
- 38 — DUCHAUFOR Ph. — Note sur l'influence de l'incinération sur l'évolution de l'humus. *Rev. Forest. franç.*, 1954, 5, 316.
- 39 — DUCHAUFOR Ph. — Pédologie. Applications forestières et agricoles. *Ecole Nat. Eaux et Forêts*, Nancy, 1956.

- 40 — DUCHAUFOR Ph. et POCHON J. — Note sur la biologie des humus forestiers. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, 88, 261.
- 41 — DUQUENOIS P. et SCHAEERER E. — La teneur en manganèse des feuilles de Digitale pourprée dépend-elle du sol ? *Ann. Pharm. Franç.*, 1950, 8, 375.
- 42 — DUQUENOIS P. — Activité biologique comparée des feuilles de Digitale pourprée spontanée et de diverses espèces de digitales cultivées à l'échelle horticole. *Ann. Pharm. Franç.*, 1952, 10, 177.
- 43 — DUQUENOIS P. — Aspect de la biologie des digitales et de leur composition chimique. *Ann. Pharm. Franç.*, 1959, 17, 634.
- 44 — DUQUENOIS P. et MARTZ M. — Essai de culture de la digitale pourprée dans les Vosges. *Bull. Soc. Pharm. Nancy*, 1963, 57, 3.
- 45 — FEDOROV M.-V. et PANTOSH D. — The physiological peculiarities of the main forms of the rhizosphere bacteria of spring wheat. *Dokladi Akad. Nauk. SSSR*, 1957, 116, 149.
- 46 — FEDOROVSKII D.-V. — Excrétion de phosphore et de calcium marqués par les racines dans le sol (en russe). *Pochvovedenie*, 1958, 3, 17.
- 47 — FRED E.-B. et HAAS A.-R.-C. — The echting of marble by roots in the presence and absence of bacteria. *J. Gen. Physiol.*, 1919, 1, 631.
- 48 — FRIES N. et FORSMAN B. — Quantitative determination of certain nucleic acid derivatives in pea root exudates. *Physiol. Plantarum*, 1951, 4, 410.
- 49 — GARNER W.-W. et ALLARD H.-A. — Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *Journ. Agric. Res.*, 1920, 18, 553.
- 50 — GARNER W.-W. et ALLARD H.-A. — Further studies in photoperiodism the response of the plant to relative length of day and night. *Journ. Agric. Res.*, 1923, 23, 871.
- 51 — GARNER W.-W. et ALLARD H.-A. — Localization of the response in plants to relative length of day and night. *Journ. Agric. Res.*, 1925, 31, 555.
- 52 — GARNER W.-W., BACON C.-W. et ALLARD H.-A. — Photoperiodism in relation to hydrogen-ion concentration of the cell sap and the carbohydrate content of the plant. *Journ. Agric. Res.*, 1924, 27, 119.
- 53 — HILTNER L. — Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arb. Deut. Landw. Ges.*, 1904, 98, 59.
- 54 — HOMES M.-V., ANSIAUX J.-R. et Van SCHOOR G. — L'aquiculture. *Bruxelles*, 1953.
- 55 — JAVILLIER M. — Les éléments chimiques et le monde vivant. *Flammarion Ed., Paris*, 1952.
- 56 — KANDLER O. — Papier chromatographischer Nachweis der Aminosäureausscheidung in vitro Kultivierter Maiswurzeln. *Z. Naturforsch.*, 1951, 66, 437.
- 57 — KATZNELSON H. — The rhizosphere effect of mangels on certain groups of microorganisms. *Soil Sc.*, 1946, 62, 343.
- 58 — KATZNELSON H., LOCHHEAD A.-G. et TIMONIN M.-I. — Soil microorganisms and the rhizosphere. *Botan. Rev.*, 1948, 14, 543.

- 59 — KATZNELSON H. et RICHARDSON L.-T. — The microflora of the rhizosphere of tomato plants in relation to soil sterilization. *Can. J. Research.*, 1943, C, 21, 249.
- 60 — KATZNELSON H. et RICHARDSON L.-T. — Rhizosphere studies and associated microbiological phenomena in relation to strawberry root rot. *Sci. Agric.*, 1948, 28, 293.
- 61 — KATZNELSON H. et ROUATT J.-W. — Studies on the incidence of certain physiological groups of bacteria in the rhizosphere. *Canad. J. Microbiol.*, 1957, 2, 265.
- 62 — KATZNELSON H., ROUATT J.-W. et PAYNE T.-M.-B. — Liberation of aminoacids by plants roots in relation to desiccation. *Nature*, 1954, 174, 1100.
- 63 — KATZNELSON H., ROUATT J.-W. et PAYNE T.-M.-B. — Liberation of aminoacids and reducing compounds by plant roots. *Plant and Soil*, 1955, 7, 35.
- 64 — KATZNELSON H., ROUATT J.-W. et PAYNE T.-M.-B. — Recent studies on the microflora of the rhizosphere. *Rap. VI^e Congr. Intern. Sci. Sol. Paris*, 1956, 3, 151.
- 65 — KING H.-D. et WALLACE R.-H. — Morphological and physiological groups of soil bacteria from the roots of barley and oats. *Canad. J. Microbiol.*, 1956, 2, 473.
- 66 — KRASILNIKOV N.-A. — Influence des excrétiions radicellaires sur la croissance des *Azotobacter* et d'autres micro-organismes du sol (en russe). *Mikrobiologiya*, 1934, 3, 343.
- 67 — KRASILNIKOV N.-A., KRISS A.-E. et LITVINOV M.-A. — Caractéristiques microbiologiques de la rhizosphère des plantes cultivées (en russe). *Mikrobiologiya*, 1936, 5, 87.
- 68 — LEFRANÇOIS A. — Essais de culture de *Digitalis purpurea* L. *Thèse Doct. Pharm. Paris*, 1931.
- 69 — LINFORD M.-M. — Methods of observing soil flora and fauna associated with roots. *Soil Sc.*, 1942, 53, 93.
- 70 — LOCHHEAD A.-G. — Qualitative studies of soil microorganisms. III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. *Can. J. Research*, 1940, C, 18, 42.
- 71 — LOCHHEAD A.-G. et CHASE F.-E. — Qualitative studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil Sc.*, 1943, 55, 185.
- 72 — LOCHHEAD A.-G. et THEXTON R.-H. — Qualitative studies of soil microorganisms. VII. The rhizosphere effect in relation to the amino acid nutrition of bacteria. *Can. J. Research*, 1947, C, 25, 20.
- 73 — LUNDEGARDH H. et STENLID G. — On the exudation of nucleotides and flavanone from living roots. *Ark. Bot.*, 1944, 31, 1.
- 74 — MASCRE M. et LEFRANÇOIS A. — Essais de culture de la digitale, *Digitalis purpurea* L. *Bull. Soc. Pharmacol.*, 1931, 38, 554.
- 75 — MESHKOV N.-V. et KHODOKOVA R.-N. — Action des excrétiions radicellaires du Pois et du Maïs sur la croissance de quelques micro-organismes du sol cultivés en solution rhizosphère (en russe). *Mikrobiologiya*, 1954, 23, 544.

- 76 — METZ H. — Recherches sur la rhizosphère (en allemand). *Arch. Mikrobiol.*, 1955, 23, 297.
- 77 — MICHAEL G. et MARSCHNER H. — Recherche avec P_{32} sur l'excrétion de phosphore par les racines (en allemand). *Z. Pflanzenernähr Düng U. Bodenk.*, 1958, 80, 1.
- 78 — NILSSON P.-E. — Influence of crop on biological activities in soil. *Lantbruks-Högskol. Ann.*, 1957, 23, 175.
- 79 — NOWOTNY-MIECZYNSKA A. et GOLEBIEWSKA J. — The influence of microbial population on the phosphorus uptake by some crop plants. *Acta Microbiol. Polon.*, 1956, 5, 129.
- 80 — PERROT Em. — Matières premières du règne végétal. *Masson Ed., Paris*, 1943-1944.
- 81 — POCHON J. — Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. *Masson Ed., Paris*, 1954.
- 82 — POCHON J. — Parenté microbiologique des Mor forestiers et des tourbes acides. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, 90, 352.
- 83 — POCHON J. et de BARJAC H. — Recherches sur la rhizosphère du Maïs. Action des fumures minérales et organiques. *Rap. VI^e Congr. Intern. Sci. Sol, Paris*, 1956, 3, 287.
- 84 — POCHON J. et de BARJAC H. — Traité de Microbiologie des Sols. *Dunod Ed., Paris*, 1958.
- 85 — POCHON J. et de BARJAC H. — Inter-action entre la croissance des « *Azotobacter* » et celle du Maïs. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 94, 419.
- 86 — POCHON J., ROCHE A., CHARPENTIER M. et TARDIEUX P. — Effet rhizosphère du Maïs (*Zea mays L.*) en culture hydroponique aux premiers stades de croissance. I. Groupements bactériens physiologiques. *Trans. 7^e int. Congr. Soil Sci.*, 1960, 2, 558.
- 87 — POCHON J. et TARDIEUX P. — Techniques d'analyse en Microbiologie du Sol. *Ed. de la Tourelle, St-Mandé (Seine)*, 1962.
- 88 — Qualitative studies of soil microorganisms. *Canada dept. of Agric. Ottawa*. I-XV, 1938-1957.
- 89 — RIVIERE J. — Etude microbiologique de la rhizosphère du Blé. II. Réalisation et analyse microbiologique d'une rhizosphère artificielle. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 95, 231.
- 90 — RIVIERE J. — Contribution à l'étude de la rhizosphère du Blé. *Thèse Doct. Sciences. Paris*, 1959.
- 91 — RIVIERE J. — Etude microbiologique de la rhizosphère du Blé. III. Nature des excréments radicellaires du Blé à la fin du tallage. *Ann. Inst. Pasteur*, 1960, 98, 313.
- 92 — ROBERTS J.-L. et ROBERTS E. — Auxin production by soil microorganisms. *Soil Sci.*, 1939, 48, 135.
- 93 — ROUATT J.-W. — Initiation of the rhizosphere effect. *Canad. J. Microbiol.*, 1959, 5, 67.
- 94 — ROUATT J.-W. et KATZNELSON H. — The comparative growth of bacterial isolated from rhizosphere and non rhizosphere soils. *Canad. J. Microbiol.*, 1957, 3, 271.

- 95 — ROUATT J.-W. et KATZNELSON H. — A study of the bacteria on the root surface and in the rhizosphere soil of crop plants. *J. Appl. Bact.* 1961, 24, 164.
- 96 — ROUATT J.-W. et LOCHHEAD A.-G. — Qualitative studies of Soil microorganisms. XIII. Effect of decomposition of various crop plants on the nutritional groups of soil bacteria. *Soil Sci.*, 1955, 80, 147.
- 97 — ROVIRA A.-D. — Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. I. The nature of root exudate from oats and peas. *Plant and Soil*, 1956, 7, 179.
- 98 — ROVIRA A.-D. — Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. II. A study of the properties of root exudate and its effect on the growth of microorganisms isolated from the rhizosphere and control soil. *Plant and Soil*, 1956, 7, 195.
- 99 — ROVIRA A.-D. — Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. III. The effect of root exudate on the numbers and activity of microorganisms in soil. *Plant and Soil*, 1956, 7, 209.
- 100 — ROVIRA A.-D. et HARRIS J.-R. — Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. V. The exudation of B-group vitamins. *Plant and Soil*, 1961, 14, 199.
- 101 — SCHAEERER E. — Composition des feuilles de digitales des Vosges et quelques-uns de ses rapports avec le sol. *Thèse Doct. Univers. Pharm.* Strasbourg, 1949.
- 102 — SMALIJ V.-T. et BERSHOVA O.-I. — Heteroauxin formation in *Azotobacter* cultures (en russe). *Mikrobiologiya*, 1957, 26, 526.
- 103 — SPERBER J.-I. et ROVIRA A.-D. — A study of the bacteria associated with the roots of subterranean clover *Wimmera* rye-grass. *J. Appl. Bact.*, 1959, 22, 85.
- 104 — STARKEY R.-L. — Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. III. Influence of the stage of plant growth upon some activities of the organisms. *Soil Sci.*, 1929, 27, 433.
- 105 — STARKEY R.-L. — Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. IV. Influence of proximity to roots on abundance and activity microorganisms. *Soil Sci.*, 1931, 32, 367.
- 106 — STARKEY R.-L. — Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. VI. Microscopic examination of the rhizosphere. *Soil Sci.*, 1938, 45, 207.
- 107 — STARKEY R.-L. — Interrelations between microorganisms and plant roots in the rhizosphere. *Bacteriol. Rev.*, 1958, 22, 154.
- 108 — STEINBERG R.-A. — Growth response to organic compounds by tobacco seedlings in aseptic culture. *J. Agr. Research*, 1947, 75, 81.
- 109 — TARDIEUX P., LAJUDIE J. et CHALVIGNAC M.-A. — Effet rhizosphérique du Maïs (*Zea mays* L.) en culture hydroponique, aux premiers stades de croissance. I. Groupements bactériens physiologiques. *Trans. 7^e int. Cong. Soil. Sci.*, 1960, 2, 562.
- 110 — TARDIEUX-ROCHE A. — Essai d'appréciation quantitative du pouvoir dissolvant des Bactéries sur les phosphates naturels. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 103, 314.

- 111 — TIMONIN M.-I. — The interaction of higher plants and Soil microorganisms. I. Microbial population of rhizosphere of seedlings of certain cultivated plants. *Can. J. Research*, 1940, C, 18, 307.
- 112 — TIMONIN M.-I. et LOCHHEAD A.-G. (in Alexander M.). — *Trans. Royal. Soc. Canada*, 1948, Ser. III, Sec. 5, 42, 175.
- 113 — WAKSMAN S.-A. — Soil Microbiology. *John Wiley and Sons, Inc. New-York*, 1952.
- 114 — WALLACE R.-H. et LOCHHEAD A.-G. — Qualitative studies of soil microorganisms. VIII Influence on various crop plants on the nutritional groups of soil bacteria. *Soil Sci.*, 1949, 67, 63.
- 115 — WEST P.-M. — Excretion of biotine and thiamine by roots of higher plants. *Nature*, 1939, 144, 1050.
- 116 — WEST P.-M. et LOCHHEAD A.-G. — The nutritional requirements of soil bacteria. A basis for determining bacterial equilibrium of soils. *Soil Sci.*, 1940, 50, 409.
- 117 — WEST P.-M. et LOCHHEAD A.-G. — Qualitative studies of soil microorganisms. IV. The rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. *Can. J. Research*, 1940, C, 18, 129.
- 118 — WINOGRADSKY S. — Etudes sur la microbiologie du sol. I. Sur la méthode. *Ann. Inst. Pasteur*, 1925, 39, 299.
- 119 — WINOGRADSKY S. — Microbiologie du Sol. Problèmes et méthodes. Cinquante ans de recherches. *Masson Ed., Paris*, 1949.
- 120 — ZAGALLO A.-C. et KATZNELSON H. — Metabolic activity of bacterial isolated from wheat rhizosphere and control soil. *J. Bact.*, 1957, 53, 760.
-

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté :

REACTIONS SEROLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES DE CERTAINES MYCOSES PROFONDES

VU :

Nancy, le 7 juin 1963.

Le Président de Thèse,

R. FRANQUET.

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 11 juin 1963.

Le Doyen de la Faculté,

A. BERNANOSE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 12 juin 1963.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

P. IMBS.

SOCIÉTÉ
D'IMPRESSIONS
TYPOGRAPHIQUES
2, rue René-d'Anjou
Tél. 24.37.52 - NANCY
